



Efecto de un fungicida sistémico en el crecimiento presimbiótico de *Rhizophagus irregularis* var. INCAM 11, *in vitro*

Effect of systemic fungicide on the presymbiotic growth of *Rhizophagus irregularis* (INCAM 11), *in vitro*

 Martha de la Caridad Arocha-Rodríguez*,  Eduardo J. Pérez-Ortega,  Kalyanne Fernández-Suárez

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

RESUMEN: Los fungicidas se utilizan ampliamente en los sistemas de cultivo actuales para controlar o eliminar los fitopatógenos fúngicos. Sin embargo, estos productos químicos pueden afectar a los microorganismos autóctonos del suelo, incluidos los que promueven el crecimiento vegetal, como los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Teniendo en cuenta lo anterior, el presente estudio se propuso determinar el efecto de diferentes concentraciones del fungicida sistémico Previcur energy 84 sl en el estadio presimbiótico de *Rhizophagus irregularis* (INCAM 11), en condiciones de cultivo *in vitro*. Para ello, se evaluó en el medio de cultivo SRM (Strullu y Romand Modificado), el porcentaje de germinación, el crecimiento del tubo germinativo, así como sus porcentajes de incremento y decremento, al estudiar cuatro concentraciones del fungicida Previcur (0,1; 1; 10 y 100 mg L⁻¹). Se observó que, a la concentración de 10 mg L⁻¹ este fungicida tiene un efecto estimulador en la germinación y en el crecimiento del tubo germinativo del hongo. El presente trabajo constituye la primera evidencia en Cuba sobre el efecto de un fungicida sistémico en el estadio presimbiótico de un hongo micorrízico arbuscular, *in vitro*.

Palabras clave: germinación de esporas, medio de cultivo, micorrizas y pesticidas.

ABSTRACT: Fungicides are widely used in current culture systems to control or eliminate fungal plant pathogens. However, these chemicals can affect indigenous soil microorganisms, including those that promote plant growth, such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Considering the above exposed, the present study set out to determine the effect of different concentrations of the systemic fungicide Previcur energy 84 sl on the presymbiotic stage of *Rhizophagus irregularis* (INCAM 11), under *in vitro* culture conditions. Modified Strullu and Romand culture medium (SRM) was employed to evaluate percentage of germination, growth of germinating tube, as well as its percentages of increase and decrease, when studying four concentrations of the Previcur Fungicide (0,1; 1; 10 and 100 mg L⁻¹). At 10 mg⁻¹ a stimulating effect on germination and on the growth of the germ tube of the fungus. The present work constitutes the first evidence on the effect of a systemic fungicide in the presymbiotic stage of mycorrhizal fungus on *in vitro* conditions reported in Cuba.

Key words: mycorrhizas, germination of spores, culture medium, pesticides.

*Autor para correspondencia: marocharodriguez@gmail.com

Recibido: 23/07/2021

Aceptado: 09/10/2021

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de intereses

Contribución de los autores: **Conceptualización:** Martha de la Caridad Arocha-Rodríguez, Eduardo Pérez-Ortega y Kalyanne Fernández-Suárez. **Investigación:** Martha de la Caridad Arocha-Rodríguez. **Supervisión:** Eduardo Pérez-Ortega y Kalyanne Fernández-Suárez. **Escritura del borrador inicial:** Martha de la Caridad Arocha-Rodríguez y Eduardo Pérez-Ortega. **Escritura y edición final:** Martha de la Caridad Arocha-Rodríguez, Eduardo Pérez-Ortega y Kalyanne Fernández-Suárez. **Curación de los datos:** Martha de la Caridad Arocha-Rodríguez

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrizógenos arbusculares (*Phyllum* Glomeromycota) son parte integral de numerosos ecosistemas y se consideran particularmente ventajosos, debido a que se asocian en simbiosis con la mayoría de las plantas vasculares estudiadas (1). Dichos hongos son biótrofos obligados, por lo que no pueden completar su ciclo de vida en ausencia de una planta hospedante (2); de ahí que la diferenciación de una micorriza funcional sea un proceso complejo que demanda la participación de ambos organismos (3).

Por otra parte, en la agricultura moderna, la protección de los cultivos frente al ataque de organismos patógenos se realiza, fundamentalmente, con agroquímicos que pueden aplicarse de forma directa en determinadas etapas del cultivo, mediante el tratamiento de las semillas o aplicados al suelo. Entre estos se encuentran los fungicidas que se utilizan ampliamente para controlar o eliminar fitopatógenos fúngicos. Sin embargo, estos productos también afectan a otros hongos autóctonos del suelo, incluidos los que promueven el crecimiento vegetal, como los HMA (4). El uso intensivo de productos químicos, sobre todo fungicidas y fertilizantes, constituye una de las causas principales de la reducción de la diversidad en los suelos, incluyendo los HMA (5,6). Sin embargo, estudios recientes informan que la aplicación de fungicidas también puede tener un efecto positivo en el establecimiento micorrízico; lo cual depende de su modo de acción y de la especie de HMA involucrada.

Teniendo en cuenta el escaso conocimiento que existe sobre el efecto de los fungicidas sobre los HMA en condiciones *in vitro* y que el empleo de estos hongos como biofertilizantes es cada vez más frecuente en diferentes sistemas de producción agrícola, la presente investigación tiene como objetivo de trabajo evaluar el efecto de diferentes concentraciones (0,1; 1; 10 y 100 mg L⁻¹) del fungicida sistémico Previcur energy 84 sl en el estadio presimbótico de *Rhizophagus irregularis* (INCAM 11), en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó entre los años 2017 y 2018, en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), perteneciente al Ministerio de Educación Superior y ubicado en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque.

Material biológico

Se empleó como inóculo el HMA *Rhizophagus irregularis* (Blaszk., Wubet, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüßler (INCAM 11), procedente del cepario del INCA. El inóculo poseía una concentración promedio de 25 esporas g⁻¹ de suelo fresco.

El medio de cultivo utilizado fue SRM (Strullu y Romand Modificado) (7). El medio estaba compuesto por (g L⁻¹): Macroelementos-MgSO₄·7H₂O-73.9, KNO₃-7.6, KCl-6.5,

KH₂PO₄-0.41; Ca (NO₃)₂·4H₂O-35.9; NaFeEDTA-0.16; Microelementos-MnSO₄·4H₂O-1.225, CuSO₄·5H₂O-1.1, ZnSO₄·7H₂O-0.14, H₃BO₃-0.925, Na₂MoO₄·2H₂O-0.12, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O-1.7; Vitaminas (g L⁻¹)-Pantotenato de calcio-0.09, Biotina-0.0001, Ácido nicotínico-0.1, Piridoxina-0.09, Tiamina-0.1 y Cianocobalamina-0.04; Sacarosa-10. Se ajustó el pH a 7,5; antes de adicionar 4 g L⁻¹ de Gellam Gum. El medio se esterilizó a 121 °C durante 15 min.

Efecto de diferentes concentraciones del fungicida sistémico Previcur energy 84sl en el estadio presimbótico de *Rhizophagus irregularis* (INCAM 11), en condiciones *in vitro*

Con el objetivo de evaluar el efecto de un fungicida sistémico en el crecimiento presimbótico *in vitro* de INCAM 11 se realizó este experimento, utilizando el fungicida comercial Previcur energy 84 sl, cuyo componente activo es: propyl 3-(dimetilamino) propilcarbamato 53 %, etilhidrogenofosfonato 31 % e ingredientes inertes 16 % (8).

Se utilizó como propágulo esporas agrupadas en racimos. Estas se extrajeron del suelo, utilizando la técnica de tamizado húmedo, decantado y posterior extracción a través del centrifugado de una solución de sacarosa+Tween 80 a 2000 rpm durante cinco minutos, según Gerdemann y Nicolson (9); modificado por Herrera *et al.* (10). Posteriormente, fueron desinfectadas utilizando la metodología de Cranenbrouck *et al.* (11), modificada por Perera *et al.* (12).

De los propágulos extraídos se seleccionaron esporas agrupadas en ramilletes, se colocaron sobre una membrana (0,44 µm de diámetro de poro) y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Posteriormente, se añadió Cloramina T 2 % (m/v) y dos gotas de Tween 20 durante 10 minutos. Seguidamente, los propágulos se lavaron tres veces con agua destilada estéril y se trataron con una solución de antibióticos (sulfato de estreptomina (0,02 %) (m/v) y sulfato de gentamicina (0,01 %) (m/v), durante 10 minutos, previamente esterilizada con ayuda de un filtro miliporo (tipo HA, 4,0 cm de diámetro y 0,22 µm de poro). Por último, la membrana con los propágulos fue transferida a la misma solución antibiótica, previamente filtrada en placa Petri estéril (90 mm diámetro) durante 24 horas (12).

Transcurrido este tiempo, se inocularon cinco propágulos por placa Petri de 90 mm de diámetro que contenían medio SRM (Strullu y Romand Modificado) (7). Se ajustó el pH del medio de cultivo a 7,5 (13). Luego de esterilizar el medio de cultivo a 121 °C durante 15 minutos, se añadió el fungicida sistémico comercial Previcur energy 84 sl en cuatro concentraciones (0,1; 1; 10 y 100 mg L⁻¹). Se utilizaron diez placas por cada una de las concentraciones del fungicida. Para la realización del experimento se utilizó un diseño completamente aleatorizado.

Se determinó el porcentaje de germinación de las esporas de la cepa INCAM 11. Se realizó una dinámica de crecimiento del tubo germinativo, a partir del momento en que se observó crecimiento, con origen en el esporóforo o

en la hifa de sustentación. Las mediciones se realizaron desde la base de la nueva hifa hasta su ápice, cada siete días, durante un mes y se empleó un micrómetro acoplado a un estereomicroscopio (NOVEL N-800M, Nanjing Jiangnan Novel Optics Co., Ltd; China, 40X). Se calculó el porcentaje de incremento de la variable longitud del tubo germinativo, respecto al control no tratado con el fungicida.

Análisis Estadístico

Una vez comprobada la normalidad, se calculó el intervalo de confianza de las medias al 95 % de probabilidad, atendiendo al número de repeticiones y la reproducibilidad de los datos. Se empleó el programa SPSS versión 19 (14) para el procesamiento estadístico de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este experimento se estudiaron cuatro concentraciones del fungicida sistémico Pevicur sobre el crecimiento *in vitro* de *R. irregularis*, en medio SRM a pH 7,5. Se escogió este valor de pH teniendo en cuenta que 7,5 resultó ser en el que mejor se desarrolló el estadio presimbiótico de esta cepa (Figura 1).

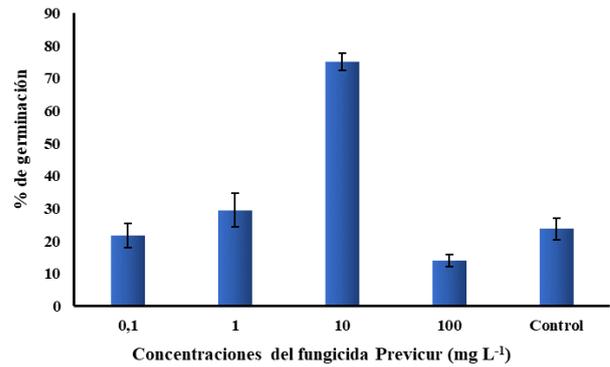
Al analizar el comportamiento de la variable puede apreciarse que, los mayores valores de porcentaje de germinación se alcanzaron al aplicar la concentración de 10 mg L⁻¹ del fungicida, diferenciándose significativamente del resto de los tratamientos. Por otra parte, al analizar el efecto de las concentraciones 0,1 mg L⁻¹ y 1 mg L⁻¹ del fungicida sistémico en la germinación de INCAM 11, no se encontraron diferencias estadísticas entre estas y el control, pero sí con la concentración de 100 mg L⁻¹, la cual presentó los menores valores de porcentaje de germinación (Figura 1).

En la Figura 2 se observa que hubo incremento en la longitud del tubo germinativo a lo largo del tiempo, apreciable en todos los tratamientos estudiados. Durante las tres primeras semanas del experimento no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos; sin embargo, en la cuarta semana, los valores de la variable comenzaron a dispersarse, siendo mayor la longitud de los tubos germinativos de las esporas que fueron tratadas con la concentración de 10 mg L⁻¹ del fungicida Pevicur.

En la Figura 3 puede apreciarse que en la concentración de 10 mg L⁻¹ el porcentaje de incremento de esta variable, con respecto al testigo sin tratar, fue de 50 %. En el caso de la concentración de 0,1 y 1 mg L⁻¹, solo alcanzaron el 10 % de incremento, sin diferencias significativas entre sí, excepto la concentración de 100 mg L⁻¹, la cual decreció un 10 % respecto al control.

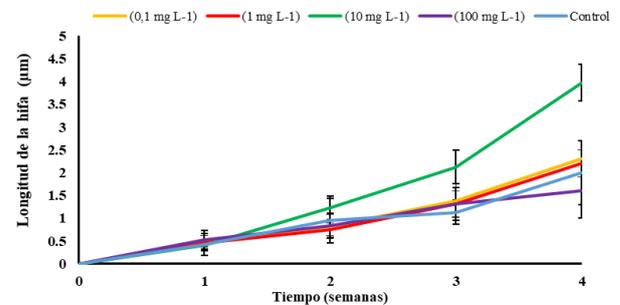
Es evidente que la aplicación al medio de cultivo SRM del fungicida Pevicur estimula, significativamente, el crecimiento de las hifas de germinación de *R. irregularis*.

Estos resultados *in vitro* guardan relación con investigaciones realizadas anteriormente (15), donde se informó acerca del efecto estimulador de algunos



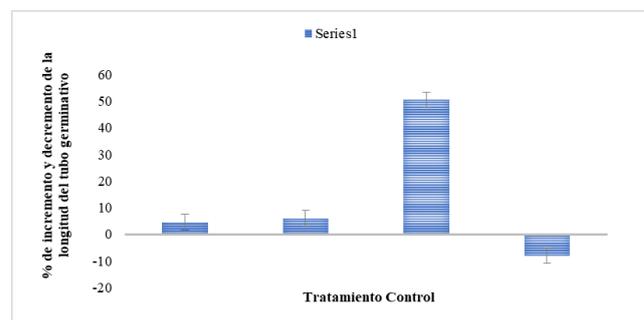
Las barras representan las medias de 10 placas conteniendo 5 propágulos cada una

Figura 1. Efecto de la aplicación al medio de cultivo SRM de diferentes concentraciones del fungicida Pevicur en la germinación de esporas de la especie *Rhizopagus irregularis* (INCAM 11), durante 28 días



Las barras representan los intervalos de confianza de la media de tratamientos para p ≤ 0,05 (n=10)

Figura 2. Dinámica del crecimiento del tubo germinativo de propágulos de la especie *Rhizopagus irregularis* (INCAM 11), inoculados en medio SRM durante 4 semanas, con diferentes concentraciones del fungicida Pevicur (0,1; 1; 10; 100 mg L⁻¹)



Las barras representan los intervalos de confianza de la media de tratamientos para p ≤ 0,05 (n=10)

Figura 3. Porcentajes de incremento y decremento de la longitud del tubo germinativo de propágulos de *Rhizopagus irregularis* (INCAM 11), inoculados en medio SRM con diferentes concentraciones del fungicida Pevicur (0,1; 1; 10; 100 mg L⁻¹), respecto al testigo, calculados al finalizar el experimento

fungicidas sistémicos en el porcentaje de germinación, el crecimiento del tubo germinativo y la colonización de la raíz de *Glomus intraradices* a concentraciones comprendidas entre 0,1 y 10 mg L⁻¹. Otros estudios también han mostrado que los fungicidas sistémicos pueden estimular o inhibir el funcionamiento micorrizico, según la concentración utilizada del ingrediente activo (16).

Es interesante destacar que en todas las concentraciones estudiadas se observó germinación y crecimiento hifal de las esporas de *Rhizophagus irregularis*, lo cual indica que no hubo un efecto inhibitorio sobre estas variables, aun cuando sus valores fueron inferiores a la concentración de 100 mg L⁻¹. Esto podría explicarse sobre la base de que la toxicidad de Previcur, al ser aplicado, incluso a mayores concentraciones (100 mg L⁻¹), no impide las reacciones que se desencadenan para el desarrollo del micelio en el medio de cultivo empleado.

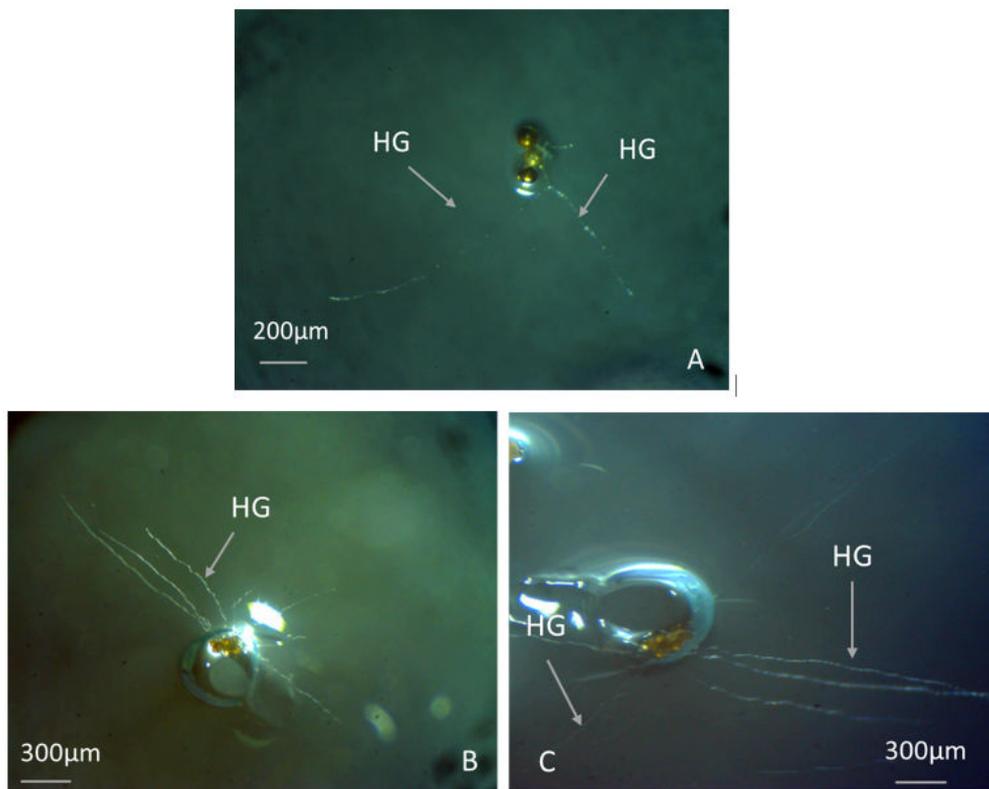
Aunque las investigaciones *in vitro* en este sentido son escasas, se han encontrado informes que indican que algunos fungicidas sistémicos, como Metalaxil, pueden causar un aumento en la germinación y la longitud del micelio de esporas de HMA *in vitro* (17). Esta información coincide con lo encontrado en este estudio, en el que Previcur, de igual modo de acción que Metalaxil, estimuló el crecimiento del tubo germinativo de la cepa INCAM 11, en la concentración de 10 mg L⁻¹ (Figura 4).

En la literatura consultada también se ha informado de algunos fungicidas sistémicos que presentan diferentes

efectos, según la especie de HMA empleada. Por ejemplo, el fungicida Fenhexamida, presenta un efecto fungistático a concentraciones superiores de 20 mg L⁻¹, al ser aplicado al medio de cultivo y reducir la germinación de esporas de *Rhizophagus irregularis* y afectar el crecimiento, la arquitectura y la fisiología del micelio extrarradical (18,19). Sin embargo, el mismo fungicida a una concentración similar a la del presente estudio (10 mg L⁻¹) no afecta la germinación, ni la formación de anastomosis de las hifas de *Funnelliformis mosseae* en medio de cultivo SRM, *in vitro* (20).

Según estudios *in vitro* (20,21), algunos fungicidas sistémicos, al ser empleados en el medio de cultivo SRM y en presencia de la cepa *Rhizophagus irregularis* y *Funnelliformis mosseae*, probados incluso a concentraciones superiores a las de este estudio (200 mg L⁻¹), mostraron un efecto positivo en los HMA. Aunque hay muy poca literatura disponible sobre los efectos directos de los fungicidas en HMA en estas condiciones experimentales de cultivo monoxénico, de ahí la novedad e importancia de esta investigación, se puede apreciar, según estos resultados, que el efecto de algunos fungicidas sistémicos depende, fundamentalmente, de la concentración del fungicida y de la especie de HMA en estudio.

Resultados similares a los de este trabajo fueron encontrados por otros investigadores (22), quienes observaron, en condiciones *in vitro*, que el fungicida



A: sin fungicida y B: con fungicida. C: esporas de INCAM 11 tratadas con Previcur a igual concentración, semana 4

Fotos tomadas al estereomicroscopio (NOVEL N-800M, Nanjing Jiangnan Novel Optics Co., Ltd; China, 40X)

Figura 4. Hifas de germinación (HG) de esporas de INCAM 11 tratadas o no con Previcur a una concentración de 10 mg L⁻¹

Myclobutanil, en un rango de concentración de 0,2 mg L⁻¹ a 20 mg L⁻¹, no afectó la biomasa, ni la viabilidad de las hifas de *R. irregularis*. Los resultados de este experimento están respaldados por datos obtenidos en campo, en los que la colonización de HMA se redujo solo cuando Myclobutanil produjo cambios en la fisiología de la planta huésped.

Por otra parte, en ausencia de una planta huésped, los productos químicos que contienen Clorotolurón no parecen tener ningún efecto sobre la germinación de esporas de HMA (4); mientras que los que contienen Bifenox y Mecoprop, Ioxinil y Clopiralida inhiben la germinación de las esporas en concentraciones bajas, pero estimulan la germinación en concentraciones consideradas altas. Estos resultados se corresponden con el efecto de Previcur en la cepa INCAM 11 estimulando su germinación y el crecimiento del tubo germinativo a una concentración de 10 mg L⁻¹.

También, se conoce que algunos fungicidas como Azoxistrobina, Flutolanil, Pencicuron y sus respectivas formulaciones (Amistar, Monarch y Monceren), tienen determinado impacto sobre el crecimiento del tubo germinativo de *R. irregularis*. Estos productos químicos al ser aplicados a concentraciones de 0,1; 1; 10 y 100 mg L⁻¹ en condiciones de cultivo *in vitro*, mostraron una respuesta diferenciada en el crecimiento del tubo germinativo y en la germinación de las esporas, de tal forma que a concentraciones de 0,1 y 1 mg L⁻¹ se observó un incremento de estas variables, mientras que a 10 y 100 mg L⁻¹ se presentó inhibición. Así mismo, se presentaron diferencias en el porcentaje de germinación dependiendo del producto empleado (Azoxistrobina y Amistar 77 y 63 %, respecto a los tratamientos con Flutolanil, Pencicuron 58 y 44 %) (21).

Los resultados de esta investigación muestran como el fungicida Previcur tiene un efecto estimulador sobre la cepa INCAM 11 a una concentración de 10 mg L⁻¹. Cabe señalar que en el medio de cultivo SRM, solo se empleó el producto químico y se inoculó la especie de HMA *Rhizophagus irregularis*, manifestándose un efecto directo de este fungicida sobre el HMA.

CONCLUSIONES

La concentración de 10 mg L⁻¹ del fungicida sistémico Previcur energy 84 sí tuvo un efecto positivo, estimulando la germinación y el crecimiento del tubo germinativo de *Rhizophagus irregularis*, en condiciones de cultivo *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

- Alguacil M del M, Torres MP, Montesinos-Navarro A, Roldán A. Soil Characteristics Driving Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Semiarid Mediterranean Soils. *Applied and Environmental Microbiology*. 2016;82(11):3348-56. doi:10.1128/AEM.03982-15
- Lanfranco L, Fiorilli V, Gutjahr C. Partner communication and role of nutrients in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*. 2018;220(4):1031-46. doi:https://doi.org/10.1111/nph.15230
- Cozzolino V, Di Meo V, Monda H, Spaccini R, Piccolo A. The molecular characteristics of compost affect plant growth, arbuscular mycorrhizal fungi, and soil microbial community composition. *Biology and Fertility of Soils*. 2016;52(1):15-29. doi:10.1007/s00374-015-1046-8
- Hage-Ahmed K, Rosner K, Steinkellner S. Arbuscular mycorrhizal fungi and their response to pesticides. *Pest Management Science*. 2019;75(3):583-90. doi:https://doi.org/10.1002/ps.5220
- Lamichhane JR, You MP, Laudinot V, Barbetti MJ, Aubertot J-N. Revisiting Sustainability of Fungicide Seed Treatments for Field Crops. *Plant Disease*. 2019;104(3):610-23. doi:10.1094/PDIS-06-19-1157-FE
- Battini F, Cristani C, Giovannetti M, Agnolucci M. Multifunctionality and diversity of culturable bacterial communities strictly associated with spores of the plant beneficial symbiont *Rhizophagus intraradices*. *Microbiological Research*. 2016;183:68-79. doi:10.1016/j.micres.2015.11.012
- Declerck S, Strullu DG, Plenchette C. Monoxenic culture of the intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection. *Mycologia*. 1998;90(4):579-85. doi:10.1080/00275514.1998.12026946
- Hernández-Dorrego A, Mestre-Parés J. Evaluation of some fungicides on mycorrhizal symbiosis between two *Glomus* species from commercial inocula and *Allium porrum* L. seedlings. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2010;8(1):43-50. doi:10.5424/sjar/201008S1-1222
- Gerdemann JW, Nicolson TH. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. 1963;46(2):235-44.
- Herrera RA, Ferrer RL, Furrázola E, Orozco MO. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. *Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos sociales*. (Eds. Maximina Monasterio) programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Subprograma XII, Diversidad Biológica, Mérida. 1995;
- Cranenbrouck S, Voets L, Bivort C, Renard L, Strullu D-G, Declerck S. Methodologies for *in vitro* Cultivation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with Root Organs. In: Declerck S, Fortin JA, Strullu D-G, editors. *In Vitro Culture of Mycorrhizas* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2005 [cited 05/10/2021]. p. 341-75. doi:10.1007/3-540-27331-X_18
- Perera-García SS, Fernández-Suárez K, Pérez-Ortega EJ. Germinación y crecimiento de propágulos de *Rhizoglyphus* sp. *in vitro*. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2019;40(2). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362019000200005&script=sci_arttext&lng=en

13. Arocha-Rodríguez M de la C, Pérez-Ortega E, Fernández-Suárez K, Haesaert G. Efecto del pH del medio de cultivo en el crecimiento presimbótico de *Rhizoglyphus irregularis*. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2019;40(2). Available from: scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362019000200008&script=sci_arttext&lng=pt
14. Gray CD, Kinnear PR. *IBM SPSS Statistics 19 Made Simple*. Psychology Press; 2012. 688 p.
15. de Novais CB, Avio L, Giovannetti M, de Faria SM, Siqueira JO, Sbrana C. Interconnectedness, length and viability of arbuscular mycorrhizal mycelium as affected by selected herbicides and fungicides. *Applied Soil Ecology*. 2019;143:144-52. doi:[10.1016/j.apsoil.2019.06.013](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.06.013)
16. Samarbakhsh S, Rejali F, Ardakani MR, Nejad FP, Miransari M. The combined effects of fungicides and arbuscular mycorrhiza on corn (*Zea mays* L.) growth and yield under field conditions. *Journal of Biological Sciences*. 2009;9(4):372-6.
17. Rose MT, Cavagnaro TR, Scanlan CA, Rose TJ, Vancov T, Kimber S, et al. Impact of Herbicides on Soil Biology and Function. In: Sparks DL, editor. *Advances in Agronomy* [Internet]. Academic Press; 2016 [cited 05/10/2021]. p. 133-220. (*Advances in Agronomy*; vol. 136). doi:[10.1016/bs.agron.2015.11.005](https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.11.005)
18. Zocco D, Fontaine J, Lozanova E, Renard L, Bivort C, Durand R, et al. Effects of two sterol biosynthesis inhibitor fungicides (fenpropimorph and fenhexamid) on the development of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycological Research*. 2008;112(5):592-601. doi:[10.1016/j.mycres.2007.11.010](https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.11.010)
19. Zocco D, Van Aarle IM, Oger E, Lanfranco L, Declerck S. Fenpropimorph and fenhexamid impact phosphorus translocation by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 2011;21(5):363-74. doi:[10.1007/s00572-010-0344-0](https://doi.org/10.1007/s00572-010-0344-0)
20. Rivera-Becerril F, van Tuinen D, Chatagnier O, Rouard N, Béguet J, Kuszala C, et al. Impact of a pesticide cocktail (fenhexamid, folpel, deltamethrin) on the abundance of Glomeromycota in two agricultural soils. *Science of The Total Environment*. 2017;577:84-93. doi:[10.1016/j.scitotenv.2016.10.098](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.098)
21. Buysens C, Dupré de Boulois H, Declerck S. Do fungicides used to control *Rhizoctonia solani* impact the non-target arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*? *Mycorrhiza*. 2015;25(4):277-88. doi:[10.1007/s00572-014-0610-7](https://doi.org/10.1007/s00572-014-0610-7)
22. Lekberg Y, Wagner V, Rummel A, McLeod M, Ramsey PW. Strong indirect herbicide effects on mycorrhizal associations through plant community shifts and secondary invasions. *Ecological Applications*. 2017;27(8):2359-68. doi:<https://doi.org/10.1002/eap.1613>