

## بررسی کارآیی ترکیب دو گونه‌ی تریکودرما در کنترل بیولوژیکی بیماری فوزاریومی نخود در شرایط گلخانه

محمد اکرمی و آس ابراهیموف<sup>۲</sup>

### چکیده

در چند سال اخیر خسارت بیماری‌های فوزاریومی نخود و سایر حبوبات افزایش چشمگیری یافته است، حتی این بیماری‌ها باعث نابودی بخش عمده‌ی محصول برخی از مزارع در آذربایجان شرقی شده است. استفاده از سموم موجب از بین رفتن میکروارگانیسم‌های مفید و بهم خوردن تعادل اکولوژیکی می‌گردد. قارچ تریکودرما موجب کنترل عوامل بیماری‌های فوزاریومی می‌شود، و همچنین مکانیزم دفاعی گیاه را تقویت می‌کند، و با ترشح آنزیم و هورمون باعث رشد و تقویت گیاه شده و در نهایت به حفظ تعادل اکولوژیکی کمک می‌کند. برای کنترل تریکودرما از روش روش کشت متقابل به صورت ماکروسکوپی استفاده شد. در این روش تقابل ایزوله‌های تریکودرما علیه گونه‌های فوزاریوم و ایزوله‌ها نسبت به همدیگر بررسی و مشخص گردید که ایزوله‌های Tr.1 و Tr.2 در کوتاه‌ترین مدت باعث توقف رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم گردید و در عین حال نسبت به همدیگر دارای کمترین تاثیر بودند. پیچش هیف تریکودرما به دور هیف گونه‌های فوزاریوم باعث لیز شدن و دفرمه شدن و توقف رشد هیف فوزاریوم شد. ترشحات مایع خارجی سلولی دو ایزوله Tr.1 و Tr.2 به‌طور قابل ملاحظه‌ای از رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم جلوگیری کرد و در عین حال نسبت به همدیگر دارای کمترین تاثیر بودند. متابولیت‌های فرار (گازی) تمام ایزوله‌ها در کاهش رشد میسیلیوم گونه‌های فوزاریومی مؤثر بودند. اثر بازدارندگی متابولیت‌های فرار Tr.1 و Tr.2 بیشتر از سایر ایزوله‌ها بود و در عین حال نسبت به همدیگر دارای کمترین تاثیر بودند. در این آزمایش ایزوله‌های Tr.1 و Tr.2 (*T.harzianum* و *T.asprellum*) برای کنترل بیولوژیکی بیماری‌های فوزاریومی نخود در گلخانه انتخاب شدند. اینوکولوم Tr.1 و Tr.2 به‌صورت مخلوط و به تنهایی به نسبت ۱۰ درصد وزنی با خاک فوقانی گلدان‌های آلوده به اینوکولوم *F. solani* و *F.oxysporum* (به نسبت ۱۰ درصد وزنی) مخلوط شدند. در این بررسی، ایزوله‌های Tr.1 و Tr.2 در سطح احتمال ۵ درصد در مقایسه با شاهد موجب افزایش رشد و فاصله‌ی وزن تر گیاهچه‌های نخود و در سطح احتمال ۱ درصد کاهش بیماری به نسبت ۶۱/۹ تا ۷۳ درصد گردید.

**واژگان کلیدی:** بیماری‌های فوزاریومی، قارچ تریکودرما، میسیلیوم، نخود.

۱- دانشگاه پیام نور ممقان و آکادمی علوم آذربایجان - ذخایر ژنتیک (نگارنده‌ی مسئول)

Akrami40@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱۸

۲- استاد دانشکده بیولوژی دانشگاه باکو، آذربایجان

## مقدمه

حبوبات دومین گروه مهم محصولات زراعی پس از غلات به شمار می‌روند. در سال ۲۰۰۵ تولید جهانی حبوبات با متوسط عملکرد ۸۴۲ کیلوگرم در هکتار معادل ۶۱/۷ میلیون تن گزارش شده است (۱۴). سطح زیر کشت جهانی حبوبات رشدی معادل ۱۴/۸ درصد نشان می‌دهد که از ۶۲/۰۸ به ۷۱/۳ در دهه‌ی اول سال ۲۰۰۰ افزایش یافته است (۱، ۱۲ و ۱۳). بیماری‌های فوزاریومی نخود و سایر حبوبات خسارت چشمگیری در آذربایجان شرقی به محصولات فوق میزند. حتی این بیماری‌ها باعث نابودی بیشتر محصول برخی از مزارع در آذربایجان شرقی شده است (۴).

بیماری‌های فوزاریومی نخود، شایع‌ترین بیماری این گیاه در ایران و جهان است. در موارد مختلف، تولید میکوتوکسین (سم) توسط عامل بیماری در تمام اندام گیاهی گزارش شده است (۹ و ۱۶). در گیاه نخود قارچ *F. Solani f. sp. Pisi* و *F. solani. f. sp. ciceri* موجب پوسیدگی سیاه رنگ ریشه می‌شود و پاتوژن *F. oxysporum* موجب مسدود شدن آوندها و زرد شدگی و پژمردگی در گیاه می‌گردد، در اثر این بیماری در مناطق کم آب گاهاً تمام محصول در اثر این بیماری‌ها از بین می‌رود (۱۶).

*F. solani* به عنوان عامل بیماری پوسیدگی ریشه‌ی نخود و *F. oxysporum* به عنوان عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی نخود از سرتاسر جهان گزارش شده است. در این

بیماری‌ها، ریشه‌ی فرعی از بین رفته و ریشه‌ها قهوه‌ای رنگ می‌گردند و برگ‌ها زرد شده، قسمتی از گیاه خشک و مقدار محصول کم و اندازه‌ی دانه‌ها کوچک می‌شود. در اثر فعالیت قارچ پاتوژن *F. oxysporum* آوندهای چوبی قهوه‌ای و مسدود و علایم کمبود آب در گیاه مشاهده می‌شود. فوزاریوم به راحتی ریزوسفر ریشه را می‌پوشاند (۱۵).

استفاده از سموم برای کنترل عامل این بیماری موجب از بین رفتن میکروارگانیسم‌های مفید و بهم خوردن تعادل اکولوژیکی می‌گردد. تولید محصولات تمیز، عاری از باقیمانده‌ی سموم شیمیایی بر پایه‌ی کنترل بیولوژیکی از اهداف مهم کشاورزی پایدار است. قارچ تریکودرما موجب کنترل عوامل بیماری‌های فوزاریومی می‌شود، و همچنین مکانیزم دفاعی گیاه را نیز تقویت می‌کند، و با ترشح آنزیم و هورمون باعث رشد و تقویت گیاه می‌گردد. و در نهایت با محدود کردن بیماری به حفظ تعادل اکولوژیکی نیز کمک می‌کند (۳ و ۴).

گونه‌های *Trichoderma* به طور گسترده به عنوان آنتاگونیست قارچی در برابر عوامل قارچی بیماری‌زا استفاده شده است. نقش قارچ آنتاگونیست تریکودرما در تقویت گیاه (رشد سریع گیاه در اثر تحریک تریکودرما) و القای سیستم دفاعی گیاه و همچنین انهدام و تجزیه‌ی حشره‌کش‌ها ثابت شده است. تریکودرما با تولید متابولیت‌های ثانویه فرار و غیر فرار رشد هیف پاتوژن را محدود کرده و با تولید آنزیم‌های متفاوت دیواره‌ی میسلیوم قارچ پاتوژن را تخریب می‌کند، این آنتاگونیست با

بررسی‌های آزمایشگاهی مشخص شد. بعد از گزینش موفق‌ترین ایزوله‌ها، از آنها در آزمایش گلخانه‌ای استفاده شد.

### مواد و روش‌ها

#### انتخاب ایزوله‌هایی با کارایی بیشتر

#### برای آزمایش‌های گلخانه‌ای

این تحقیق از سال ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹ در آزمایشگاه دانشگاه پیام نور مراغه و گلخانه‌ی آکادمی علوم آذربایجان انجام گرفت، در ۵۰ ایزوله‌ی تریکودرما‌ی خالص سازی شده با روش (Single spore) از خاک ریزوسفر و خاک مزارع نخود و حبوبات، مشخصات ذیل به منظور انتخاب ایزوله‌هایی با کارایی بیشتر مورد بررسی قرار گرفت. در کشت متقابل تأثیر پرگنه‌ی تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم به صورت ماکروسکوپی بررسی شد، و همچنین داشتن کمترین رقابت (تغذیه‌ای یا رشد پرگنه‌ها) ایزوله‌های تریکودرما نسبت به همدیگر نیز بررسی شد (۶). اثر ترشحات میسلیوم تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم با روش دنیس و ویستر (۷) بررسی شد، در این بررسی داشتن کمترین رقابت ایزوله‌های تریکودرما نسبت به همدیگر بررسی شد. در بررسی میکروسکوپی نحوه‌ی تأثیر ایزوله‌های تریکودرما روی قارچ‌های پاتوژن، پیچش شدید و میخ رخنه زیر میکروسکوپ بررسی شد (۸).

به منظور مشخص نمودن تأثیر متابولیت‌های فرار (گازی) ایزوله‌های تریکودرما، هنگامی که هر دو قارچ پاتوژن و

رقابت تغذیه‌ای قوی به راحتی ریزوسفر ریشه را تسخیر نموده و مانع رسیدن پاتوژن به ریشه می‌شود (۳ و ۸).

تأثیر ایزوله‌های قارچ *T. harzianum* و باکتری *B. subtilis* روی پاتوژن‌های *F. solani* در محیط *In vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت، سپس در بررسی گلخانه‌ای دانه‌های گیاه جهت کشت با سوسپانسیون اسپور آنتاگونیست‌ها آغشته و کشت شدند. در این آزمایش ایزوله‌های آنتاگونیست در مقایسه با قارچ‌کش‌ها جهت کنترل بیماری، رقابت خوبی نشان دادند (۱۰ و ۱۷). در تأیید این موضوع اعتباریان (۱۲) با استفاده از آنتاگونیست *T. harzianum*-T39 پاتوژن‌های *Phytophthora erythroseptica* و *Macrophomina phaseolina* را کنترل نمود.

الاد و همکاران (۹) مکانیزم و نحوه‌ی تأثیر آنتاگونیستی قارچ *T. harzianum* را بر روی پاتوژن‌های *Rhizoctonia* sp. و *Sclerotinia* گزارش نمود. اکرمی و همکاران (۴) تأثیر چند ایزوله‌ی *T. harzianum* و *T. asperellum* به طور جداگانه و مخلوط با هم بر علیه عامل بیماری فوزاریومی لوبیا در شرایط گلخانه مقایسه شده است. در این تحقیق از مخلوط چند ایزوله مختلف نتایج خوبی گرفته شده است (۴).

در این آزمایش جهت کنترل بیماری‌های فوزاریومی نخود (که شایع‌ترین بیماری نخود در ایران است) از گونه‌های تریکودرما استفاده گردید، پتانسیل آنتاگونیستی این گونه‌ها در

سبوس گندم تکثیر گردید، سبوس گندم ابتدا به مدت ۴ روز در رطوبت نسبی ۹۰ درصد به‌طور رو باز نگهداری شد. سپس در ارلن مایر ۱ لیتری به وزن ۵۰۰ گرم از این سبوس مرطوب ریخته شد. ارلن‌ها در دو روز متوالی هر بار به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه‌ی سلسیوس با فشار ۱/۵ اتمسفر در اتوکلاو استریل شدند. پس از سرد شدن ارلن‌ها در جوار شعله‌ی چراغ الکلی به ازای هر ۱۰۰ گرم سبوس، به مقدار دو میلی‌لیتر سوسپانسیون تریکودرما به غلظت  $۱۰^۶ \times ۲$  اسپور در هر میلی‌لیتر اضافه شد. دهانه‌ی ارلن‌ها با پنبه به‌خوبی مسدود و در انکوباتور با دمای متوسط ۲۷ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۰ روز نگهداری شد، پس از این مدت ایزوله‌ها روی سبوس گندم رشد نمودند (۲ و ۵).

#### بررسی اثر قارچ تریکودرما در کنترل

#### بیماری‌های پژمردگی فوزاریومی و پوسیدگی سیاه ریشه‌ی نخود در شرایط گلخانه

مایه‌ی قارچ‌های پاتوژن‌های *F. solani* و *F. oxysporum* تهیه شده به نسبت ۱:۱۰ وزنی با خاک زراعی که در درجه حرارت ۱۲۰ درجه‌ی سلسیوس دو بار به‌فاصله‌ی ۲۴ ساعت استریل شده بود، مخلوط گردید (۱۰۰ گرم مایه و ۹۰۰ گرم خاک) و به یک سوم حجم فوقانی گلدان‌هایی به ظرفیت ۱۰۰۰ گرم خاک اضافه شد (۳۰ گرم مایه + ۲۷۰ گرم خاک). حجم دو سوم زیرین به‌وسیله‌ی خاک استریل پر شد. همچنین، ۳۰ گرم مایه‌ی آنتاگونیست‌ها با ۲۷۰

سپروفیت همزمان کشت شدند، برکاهش رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم از روش دنیس و ویستر (۷) استفاده شد، و همچنین داشتن کمترین تاثیر ایزوله‌های تریکودرما نسبت به همدیگر نیز با همین روش بررسی شد.

به منظور بررسی گلخانه‌ای برای تهیه‌ی مایه‌ی قارچ‌های *F. solani* و *F. oxysporum* (توسط محقق در تحقیقات پایان‌نامه از گیاه نخود جدا و بعد از شناسایی، اثبات بیماری‌زایی (شد) قارچ‌های بیماری‌زا با استفاده از روش اخوت و کریمپور (۲) روی مخلوطی از ماسه و آرد گندم مرطوب (به ترتیب به نسبت‌های ۹۵ گرم + ۵ گرم + ۵۰ میلی‌لیتر آب) که دو بار به‌مدت ۳۰ دقیقه به فاصله‌ی ۲۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه‌ی سلسیوس استریل شده بود، تکثیر گردید و برای این منظور از کشت ۱۰ روزه‌ی قارچ در محیط کشت PDA استفاده شد.

سوسپانسیون اسپور قارچ به غلظت  $۱۰^۶ \times ۳$  اسپور در هر میلی‌لیتر به‌وسیله‌ی هماسیتومتر تهیه و دو میلی‌لیتر از آن به ارلن حاوی صد گرم ماسه و آرد گندم مرطوب افزوده شد. ارلن‌ها به انکوباتور با دمای حد متوسط ۲۵ درجه‌ی سلسیوس منتقل و در این شرایط ۲۰ روز نگهداری شدند، که تعدادی از ارلن‌های حاوی ۱۰۰ گرم مخلوط ماسه و آرد گندم استریل فقط دو میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌جای سوسپانسیون اسپور به‌عنوان شاهد، اضافه و در انکوباتور نگهداری گردید.

برای تهیه‌ی مایه‌ی قارچ‌های آنتاگونیست با استفاده از روش اخوت و کریمپور (۲) روی

اول وزن تر بوته‌ها با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد.

برای تعیین درصد افزایش وزن از نسبت وزن تر بوته در تیمار شاهد غیر آلوده - وزن تر بوته‌ها در تریکودرما به وزن تر بوته‌ها در تیمار شاهد غیر آلوده به صورت درصد استفاده شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد (۳، ۴، ۵ و ۱۲).

### نتایج و بحث

انتخاب ایزوله‌هایی با کارایی بیشتر برای آزمایش‌های گلخانه‌ای در ۵۰ ایزوله‌ی تریکودرما، ایزوله‌های Tr.1 و Tr.2 بیشترین توانایی رقابت تغذیه‌ای را نشان دادند، ترشحات میسلیم ایزوله‌های Tr.1 و Tr.2 در جلوگیری از رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم، به ترتیب درصد تأثیر بیشتری از سایر ایزوله‌ها داشتند (۸)، در مشاهده‌ی میکروسکوپی نحوه‌ی تأثیر ایزوله‌های تریکودرما روی قارچ‌های پاتوژن، در Tr.2 پیچش شدید و در ایزوله Tr.1 و میخ‌رخنه مشاهده شد (۶).

در بررسی اثر متابولیت‌های فرار (گازی) ایزوله‌های تریکودرما در کاهش رشد پرگنه‌ی گونه‌های فوزاریوم، هنگامی که هر دو قارچ پاتوژن و ساپروفیت همزمان کشت شدند، تأثیر ایزوله‌ی Tr.1 و Tr.2 بیشتر از سایر ایزوله‌ها بود (۷).

بررسی‌های فوق نشان می‌دهند که دو ایزوله‌ی Tr.1 و Tr.2 بیشتر از سایر ایزوله‌های

گرم خاک قسمت بالای گلدان‌هایی که آلوده به قارچ بیماری‌زا بود، مخلوط شد (به نسبت ۱:۱۰). در تیمارهایی که از دو ایزوله‌ی تریکودرما استفاده می‌شد (۳۰=۱۵+۱۵). مجموع دو ایزوله ۳۰ گرم بود. در تیمار شاهد به ۲۷۰ گرم خاک فوقانی گلدان‌ها ۳۰ گرم سبوس گندم اضافه شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه هر سه روز یک‌بار آبیاری شدند تا قارچ‌ها به‌خوبی مستقر گردند.

در هر گلدان (تکرار) تعداد ۳ عدد نخود پس از ضدعفونی سطحی (۳ دقیقه در محلول ۱۰ درصد وایتکس با نیم درصد هیپوکلریت سدیم) کاشته شد. گلدان‌ها تا هفته‌ی سوم روزانه و سپس هر دو روز یک‌بار آبیاری شدند. این آزمایش در ۱۱ تیمار و هر تیمار با سه تکرار به‌صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد، آماربرداری در هفته‌ی اول هر دو روز یک‌بار و پس از آن هر سه روز یک‌بار تا ۴۰ روز انجام گرفت (۲، ۳، ۴ و ۱۱).

### تعیین درصد افزایش وزن بوته‌های نخود در اثر ایزوله‌های تریکودرما و درصد کاهش بیماری توسط ایزوله‌های تریکودرما

این آزمایش با استفاده از روش اخوت و همکاران (۲) اجرا شد، تیمارهای این آزمایش و نام اختصاری ایزوله‌های پاتوژن و تریکودرما به شرح جدول ۱ بود.

پنج هفته بعد از مایه‌زنی وقتی که علایم در تیمار شاهد آلوده ظاهر شد، خاک گلدان‌ها در تمام تیمارها مرطوب گردید و سپس بوته‌های هر تیمار بیرون آورده شد. در بررسی

بیماری‌های فوزاریومی نخود کارآیی دارد  
(جدول ۲)، لذا این دو ایزوله برای بررسی‌های  
گلخانه‌ای انتخاب شدند (۱۲ و ۱۷).

جدول ۱- نام اختصاری ایزوله‌های پاتوژن و تریکودرما

علامت اختصاری	نوع تیمار	تیمار
Control	شاهد سالم	اول
F.S	<i>F. solan</i>	دوم
F.O	<i>F. oxysporum</i>	سوم
$Tr_1$	<i>T.harzianum</i>	چهارم
$Tr_2$	<i>T.asperellum</i>	پنجم
$T_1+F.S.$	<i>T. harzianum +F.solani</i>	ششم
$Tr_1+F.O.$	<i>T.harzianum+F.oxysporum</i>	هفتم
$Tr_2+F.S.$	<i>T. asperellum+F.solani</i>	هشتم
$Tr_2+F.O.$	<i>T. asperellum+F.oxysporum</i>	نهم
$FO+(T_1+T_2)$	<i>T. harzianum+ T. asperellum+ F.oxysporum</i>	دهم
$FS+(T_1+T_2)$	<i>T. harzianum+ T. asperellum+F.solani</i>	یازدهم

**جدول ۲-** تاثیر ایزوله‌های تریکودرما در افزایش وزن تر بوته‌های نخود و مقایسه میانگین وزن تر نخود آلوده به بیماری‌های فوزاریوم که با دو گونه‌ی *T.harzianum*, *T.asperellum* قارچ تریکودرما تیمار شده‌اند

نوع تیمار	میانگین وزن تر بوته‌های نخود بر حسب گرم	گروه بندی تیمارها	افزایش در صد وزن نسبت به شاهد الوده
Control	۱۰	BC	-
T <sub>1</sub>	۱۳/۸	A*	-
T <sub>2</sub>	۱۱	B	-
F <sub>s</sub>	۳	F	-
F <sub>o</sub>	۳	F	-
F <sub>o</sub> +T <sub>1</sub>	۷	D	۵۷/۱
F <sub>s</sub> +T <sub>1</sub>	۶/۵	D	۵۳/۸
F <sub>o</sub> +T <sub>2</sub>	۶	DE	۵۰
F <sub>s</sub> +T <sub>2</sub>	۵	E	۴۰
F <sub>s</sub> +(T <sub>1</sub> +T <sub>2</sub> )	۹	C	۶۶/۶
F <sub>o</sub> +(T <sub>1</sub> +T <sub>2</sub> )	۸	CD	۶۲/۵

\* تیمارهایی که با حرف یکسان نشان داده شدند دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

دارد، یافته‌های فوق موفقیت ترکیب دو گونه‌ی آنتاگونیست را جهت کنترل بیماری‌های فوزاریوم مشخص کرد. در این بررسی ایزوله‌های Tr<sub>1</sub> و Tr<sub>2</sub> در سطح احتمال ۵ درصد در مقایسه با شاهد موجب افزایش رشد و وزن تر گیاهچه‌های نخود و در سطح احتمال ۱ درصد کاهش بیماری به نسبت ۶۱/۹ تا ۷۳ درصد گردید. تیمار T<sub>1</sub> بیشترین اثر را روی افزایش وزن تر بوته‌های نخود داشت و تیمار Fo+T<sub>1</sub> بیشترین اثر را روی افزایش وزن تر بوته‌های آلوده نخود داشت، تیمار T<sub>1</sub>+T<sub>2</sub>+F<sub>s</sub> بیشترین اثر را روی کاهش بیماری بوته‌های نخود نشان داد (جدول ۳).

محاسبات آماری نشان داد که ایزوله‌های تریکودرما در تیمارهای آزمایش در سطح آماری ۵ درصد از لحاظ افزایش وزن تر بوته‌ها نسبت به شاهد غیر آلوده دارای اختلاف معنی‌داری است، همچنین افزایش مایه‌ی تلقیح دو گونه‌ی تریکودرما ( ترکیب) به مقدار ۱۰ درصد وزنی به یک سوم قسمت فوقانی گلدان‌ها در افزایش وزن بوته‌های خود موثر بود.

#### نتیجه‌گیری نهایی

بررسی حاضر نشان داد *T. harzianum* و *T. asperellum* نسبت به سایر ایزوله‌ها پتانسیل خوبی در کنترل بیماری‌های فوزاریومی نخود

جدول ۳- اثر دو ایزوله‌ی تریکودرما در کاهش درصد بیماری بوته‌های نخود

Treatment	Rot ( % ) (treatment)	Reduction ( % ) (soil treatment)
F.o.	۸۰/۲	۰
F.s.	۵۲/۵	۰
T <sub>2</sub> +T <sub>1</sub> +F.o.	۲۱	۷۳
T <sub>2</sub> +T <sub>1</sub> +F.s.	۱۶	۶۹/۵
T <sub>1</sub> +F.o.	۲	۷۲/۵
T <sub>1</sub> +F.s.	۱۸	۶۵/۷
T <sub>2</sub> +F.o.	۲۳	۷۱/۳
T <sub>2</sub> +F.s.	۲۰	۶۱/۹
Control	۰	۱۰۰

### منابع مورد استفاده

- ۱- بی‌نام. ۱۳۸۰، ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸. آمار نامه کشاورزی. انتشارات معاونت طرح و برنامه وزارت جهاد کشاورزی.
- ۲- اخوت، م. و ف. کریمپور. ۱۳۷۵. تاثیر چند قارچ جدا شده از قارچ‌های آنتاگونیست علیه پوسیدگی سیاه ریشه نخود *Fusarium solani* در شرایط گلخانه. مجله علوم کشاورزی، جلد ۲۷ شماره ۲: ۴۵-۳۷.
- ۳- پیغامی، ا. ۱۳۷۰. بررسی امکان مبارزه بیولوژیکی با فوزاریوم عامل پژمردگی خیار به‌وسیله *T. harzianum*. مجله دانش کشاورزی. جلد ۲. شماره ۳: ۱۲۳-۱۰۰.
- 4- Akrami, M., A. Ibrahimov., D.M. Zafari and E. Valizadeh. 2009. Control Fusarium rot of bean by combination of by *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* in Greenhouse condition. Agriculture Journal. 4(3): 121-123.
- 5- Datnoff, L.E., S. Nemecek and K. Pernezny. 1995. Biological control of Fusarium crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. Biological Control. 5: 427-431.
- 6- Dennis, C. and J. Webster. 1971a. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III, hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 363-369.
- 7- Dennis, C. and J. Webster. 1971b. Antagonist properties of species group of *Trichoderma*, 2. Production of volatile antibiotics. Transaction Br. Mycol. Soc. 57: 41-78.
- 8- Dennis, C. and J. Webster. 1971c. Antagonist properties of species group of *Trichoderma*, 3. Hyphal interaction. Transaction Br. Mycol. Soc. 57: 263-369.



- 9- Elad, Y., I. Chet and J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizocionia solani*. *Phytopathology*. 70: 119-121.
- 10- El-Meleigi, M.A., Z.M. Hassan and G.H. Ibrahim. 2007. Biological control of common root rot of spring wheat by coating seeds with *Bacillus* or *Trichoderma* spp. *JKAU: Met., Env. and Arid Land Agric. Sci.* 18(1): 3-12.
- 11- Etebarian, H.R., E.S. Scott and T.J. Wicks. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 and *T.virens* DAR 74290 as potential biological control agents for *Phytophthora erythroseptica*. *Eur. J. Plant Pathol.* 106: 329-337.
- 12- Etebarian, H.R. 2006. Evaluation of *Trichoderma* isolates for biological control of charcoal stem rot in melon caused by *Macrophomina phaseolina*. *J. Agric. Sci. Technol.* 8: 243-250.
- 13- FAO. 2004. FAO Year Book. FAO Publication.
- 14- FAO. 2005. FAO Year Book. FAO Publication.
- 15- Fillion, M., M. St-Arnaud, and S. H. Jabaji-Hare. 2003. Quantification of *Fusarium solani* *F. sp. phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using realtime polymerase chain reaction and direct isolations on selective media. *Phytopathology*. 93: 229-235.
- 16- Hasanzade, F., M. Falahati Rastegar, B. Jafarpour and M. Kermani .2008. Identification of *Fusarium solani* *F. sp. pisi* the cause of root rot in Chickpea and assessment of its genetic diversity using AFLP in Northeast Iran. 3: 737-741.
- 17- Saman, A. 2007. Biological control of *Fusarium solani* *f. sp.phaseoli* the causal agent of root rot of bean using *Bacillus subtilis* CA32 and *Trichoderma harzianum*. *Ruo 1Ruhuna Journal of Science*. 2: 82-88.

## Evaluation of Different Combination of *Trichoderma* Species for Controlling *Fusarium* Rot of Chickpea

M. Akrami<sup>1\*</sup>, and A. Ibrahimev<sup>2</sup>

### Abstract

The *Fusarium* disease, caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* has been observed in different areas of Iran in recent years. Current biocontrol studies have confirmed the effectiveness of the *Trichoderma* species against many fungal phytopathogens. In this study, biocontrol effects of *Trichoderma* isolates, both separately and their combined effects were evaluated against *Fusarium oxysporum*, *F. solani* pathogen. In this investigation the ability of *Trichoderma harzianum* and *T. asperellum* isolates, isolated from soil and chickpea root, were compared with combination of three fungal lentil *Fusarium* rot. Three isolates (*Trichoderma*) of isolates T<sub>1</sub>, and T<sub>2</sub> around *Fusarium oxysporum* and *F. solani* hyphae. Volatile metabolites of all isolates reduced the mycelial growth of fusarium diseases pathogen. T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> isolates and their combination were more effective than other treatments to control the disease, where it reduced 75 to 78% disease. All of treatments showed significant differences with control (*Trichoderma harzianum*) T<sub>1</sub>, (*Trichoderma asperellum*) T<sub>2</sub>, were selected before test (shown good antagonist effect) after screening tests for antifungal combination effects against *Fusarium* disease pathogen in greenhouse. In dual culture tests, three (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>) isolates covered and colonized the colony of the pathogen. In this research three (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>) isolates covered and colonized the colony of the other *Trichoderma* isolates. Microscopic studies revealed hyphal coiling (hyperparasitismplants).

**Key words:** Biocontrol, Chickpea, Combination, *Fusarium* rot, *Trichoderma*.

---

1- Mamaghan Payam-e-noor University (PNU), Iran.

2- Department of Biology, University of Baku, Azerbaijan.

\*Corresponding author: akrami40@yahoo.com