نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷، ص. ۱۹۹-۱۹۵

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 2, Summer 2018, P. 195-199

بررسی تأثیر سطوح مختلف دما و pH بر چندگونه *Trichoderma* در کنترل بیولوژیکی پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

رقیه حبیبی[1*]- کامران رهنما[2]- میثم تقی نسب[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۸

چکیده

پژمردگی آوندی گوجه‌فرنگی ناشی از *Fusarium oxysporum* یکی از مشکلات اساسی در تولید این محصول است. به منظور بررسی اثر دما و pH بر فعالیت آنتاگونیستی چند گونه *Trichoderma* بومی مزارع جالیز، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه‌ای انجام شد. نتایج کشت متقابل نشان داد تمام پنج جدایه بومی این قارچ قادر به کاهش رشد میسلیومی بیمارگر در شرایط آزمایشگاه بودند. توانایی گونه‌های *Trichoderma* در بازدارندگی از رشد بیمارگر، با هم و در دما و pHهای متفاوت اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد داشت. گونه ی *T. harzianum* (Ah90) با ۵۸/۳۳ درصد بازدارندگی از رشد در دمای ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد و pH ۶/۵ بالاترین فعالیت آنتاگونیستی را داشت. در آزمایشات گلخانه‌ای پس از گذشت ۳۵ روز اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی بوته‌های گوجه‌فرنگی مربوط به هر تیمار اختلاف معنی‌داری با شاهد در هر دو روش تزریق سوسپانسیون و اختلاط عوامل بیوکنترل با خاک نشان داده شد. با توجه به گروه‌بندی آماری، توان کنترل‌کنندگی تیمار آنتاگونیست *T. harzianum* (Ah90) به‌همراه بیمارگر نسبت به دو گونه دیگر در مقایسه با شاهد آلوده به مراتب بیشتر بوده و به‌ترتیب با ۲/۰۲ و ۲/۱۴ گرم در افزایش وزن تر و وزن خشک اندام‌هوایی و ۲/۳۲ سانتی‌متر در افزایش ارتفاع گیاه همراه بود.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی آوندی، جدایه‌های *Trichoderma*، کنترل زیستی، محرک رشد گیاه

مقدمه

بیماری‌های قارچی گیاهان، یک نگرانی بزرگ در تولید غذایی کشاورزی در سرتاسر جهان هستند. گونه‌ها و فرم‌های اختصاصی قارچ *Fusarium* بیماری‌های مهمی را در سیستم آوندی گیاهان تحت عنوان پژمردگی آوندی به‌وجود می‌آورند. از طرفی هدف از مبارزه بیولوژیک استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست به منظور کم کردن یا جایگزین کردن عوامل بیماری‌زای گیاهی از طریق اضافه کردن آن‌ها به خاک می‌باشد (۱۰). قارچ *Trichoderma* در سال‌های اخیر به عنوان قارچ‌کش بیولوژیک مطرح بوده که اغلب در خاک و ریزوسفر گیاهان یافت می‌شوند. این گونه‌ها با فعالیت‌های ضدقارچی نظیر آنزیم‌های سلولاز، کیتیناز و گلوکاناز نقش عمده‌ای در برهمکنش با عامل بیمارگر این قارچ‌ها دارند (۵). شرایط pH خاک یکی از مهم‌ترین پارامترهای محیطی تأثیرگذار بر فعالیت‌های مایکوپارازیتی این گونه‌ها می‌باشد. دما نیز یکی دیگر از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر در خصوصیات فیزیولوژیکی قارچ‌ها می‌باشد و تاکنون تأثیر آن بر میزان رشد رویشی، توانایی اسپورزایی، بیماری‌زایی و تولید توکسین‌های بیماری‌زای گیاهی در برخی از عوامل بیماری‌زای گیاهی به اثبات رسیده است (۸). بنابراین در این مطالعه با هدف مقایسه جدایه‌های مختلف از گونه‌های *Trichoderma* و تأثیر عوامل محیطی pH و دما بر رشد میسلیوم و بررسی رفتارهای آنتاگونیستی *Trichoderma* علیه عامل بیماریزای پژمردگی آوندی *F. oxysporum* این مطالعه دارای اهمیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

رشد گونه‌های *Trichoderma* در سطوح مختلف دما و pH و کشت متقابل در شرایط آزمایشگاهی

جدایه‌های *Trichoderma* مورد استفاده در این تحقیق شامل: *T. koningii*، *T. atroviridae* (6022)، *T. atroviridae* (1-3)، *T. virens* (6011)، *T. harzianum* (Ah90) و یک جدایه *Fusarium oxysporum* بود. کلیه آزمایش‌ها در شرایط

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*- نویسنده مسئول: Email: rogaeehhabibi@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jpp.v32i2.60019

آزمایشگاه و بر روی محیط‌کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار انجام شد. تعیین pH مورد نظر (۴، ۵ و ۶/۵) با اضافه کردن HCL و NaOH ۰/۱ نرمال تنظیم شد (۳). از کشت ۴۸ ساعته هر یک از گونه‌های قارچی استفاده و تشتک‌ها در شرایط تاریکی و دماهای مورد نظر در اتاقک رشد (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و میزان رشد شعاعی این قارچ‌ها به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد (۸). به منظور بررسی رقابت تغذیه‌ای جدایه‌های *Trichoderma* با قارچ بیمارگر از کشت دو طرفه[1] و غیرهمزمان آنتاگونیست و بیمارگر استفاده شد. میزان درصد بازدارندگی رشد براساس فرمول ۱ (۱)، اندازه‌گیری شد. آزمایش در چهار تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام گردید. نحوه پارازیته شدن گونه *Fusarium* توسط گونه‌های *Trichoderma* در محل برهمکنش به روش کشت روی لام‌های میکروسکوپی استریل انجام و زیر میکروسکوپ نوری (Olysia Bio Report) مورد بررسی قرار گرفت (۵).

فرمول ۱: درصد بازدارندگی رشد (IP: درصد بازدارندگی از رشد، RGC: رشد شعاعی بیمارگز در شاهد، RGT: رشد شعاعی بیمارگر در تیمار)

$$IP = \frac{(RGC-RGT)}{RGC} * 100$$

کاربرد سوسپانسیون و مایه تلقیح قارچ *Trichoderma* و *Fusarium* در شرایط گلخانه‌ای

خاک مورد نیاز در گلخانه پاستوریزه شد و اندازه‌گیری و تنظیم pH خاک به روش الکترومتری (۶) و تعدیل آن با استفاده از گوگرد پودری صورت گرفت (۷). از نشا گیاه گوجه‌فرنگی[2] رقم Early urbana در شرایط دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد با شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنائی و ۱۰ ساعت تاریکی در گلخانه استفاده شد. به منظور تهیه سوسپانسیون اسپور *Trichoderma* از کشت ده روزه جدایه‌های *Trichoderma* به غلظت ۳×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر به صورت مجزا برای هر کدام از جدایه‌های *T. atroviridae* (1-3)، *T. virens* (6011) و *T. harzianum* (Ah90) تهیه و سوسپانسیون اسپور بیمارگر نیز به غلظت معادل ۳×۱۰^{۵} اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد (۲). در روش تهیه مایه تلقیح برای گونه‌ی *Fusarium*، بر ۱۰۰ گرم بذر گندم انجام و پودر بدست آمده به مقدار ۱۴ گرم در کیلوگرم خاک اضافه گردید (۴). برای تهیه مایه تلقیح عوامل بیوکنترل از کشت سه روزه میسلیوم قارچ به روش ذکر شده در بالا استفاده گردید. پس از گذشت ۳۵ روز از مایه‌زنی، علائم ایجاد شده روی برگ‌ها و ساقه‌ها در هر دو روش شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. پارامترهای مورد ارزیابی شامل، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ارتفاع گیاه گوجه‌فرنگی بودند. داده‌های حاصل از بررسی گلخانه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی با ۸ تیمار و ۵ تکرار با نرم‌افزار SAS (9.0 Portable) و آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۱ درصد ($P<۰/۰۱$) انجام گرفت.

نتایج

نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که بیشترین درصد بازدارندگی در سه طیف دمایی و pH با ۵۸/۳۳ درصد، ۳۲/۹۲ درصد، ۳۰/۴۳ درصد، ۲۷/۲۷ درصد و ۱۶/۶۶ درصد به ترتیب به *T. harzianum* (Ah90)، *T. virens* (6011)، *T. atroviridae* (1-3)، *T.* (6022) *atroviridae* و *T. koningii* تعلق داشت (جدول ۱).

در بررسی میکروسکوپی (شکل ۱) بعد از رسیدن ریسه‌ها به هم تماس *Trichoderma* با پیچش[3] به دور ریسه بیمارگر مشاهده و باعث تخریب[4] میسلیومی قارچ بیمارگر شدند. از طرفی در محل برخورد *Trichoderma* و عامل بیماری ریسه‌های دو قارچ بسیار فشرده و کم تراکم مشاهده شدند. این پدیده در کلیه pH و دماها مشاهده شد. پیچش به دور ریسه‌های بیمارگر و تشکیل ساختارهای حلقه‌مانند توسط برخی گونه‌های *Trichoderma* در کارهای سایر محققین نیز گزارش شده است (۱).

با توجه به جدول ۲ تأثیر گونه‌های مختلف *Trichoderma* بر بیمارگر *Fusarium* در کاربرد آن‌ها به روش سوسپانسیون در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار شد. در تیمار قارچ *T. harzianum* (Ah90) به‌همراه *F. oxysporum* نسبت به *F. oxysporum* تنها (شاهد آلوده) به‌ترتیب افزایش ۱/۹۴ و ۱/۵۰ گرمی در وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه به‌دست آمد. در همین تیمار به‌ترتیب افزایش ۲/۷ و ۱/۵۵ گرمی در وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی گیاه به‌دست آمد. مطابق با این جدول مشخص شد که قارچ *T. atroviridae* (1-3) در بین این سه گونه کم‌ترین تأثیر را داشته ولی نسبت به شاهد افزایش رشد مشاهده گردید. بیشترین اثر رشدی با گونه *T. harzianum* (Ah90) و *T. virens* (6011)، به‌دست آمد که از لحاظ آماری در یک گروه قرار داشته و تفاوت معنی‌داری باهم ندارند. در استفاده از روش مایه تلقیح گونه‌های آنتاگونیست و بیمارگر، در تیمار قارچ *T. harzianum* (Ah90) به‌همراه *F. oxysporum* نسبت به *F. oxysporum* (شاهد آلوده) تنها به‌ترتیب افزایش ۲/۹۸ و ۱/۷۲ گرمی در وزن تر ریشه و اندام‌هوایی گیاه بدست آمد. در عملکرد تیمارهای مورد بررسی به روش اختلاط با خاک در ارتفاع گیاه مورد آزمون، سه تیمار *T. virens* (6011)، *T. atroviridae* (1-3) و شاهد سالم فاقد اختلاف معنی‌دار بوده و در یک گروه آماری قرار داشتند. نتایج آماری

1- Dual culture
2- *Solanum lycopersicum*
3- Coiling
4- Lysis

جدول ۲ حاکی از این است که با توجه به گروه‌بندی آماری، توان کنترل کنندگی گونه‌ی آنتاگونیست *T. harzianum* (Ah90) نسبت به دو گونه دیگر (*T. virens* (6011) و *T. atroviridae* (1-3)) به مراتب بیشتر بوده و تفاوت معنی‌داری در افزایش عملکرد اجزای رویشی و ارتفاع در بین این دو گروه آنتاگونیستی در جهت کنترل موفق عامل بیماری *F. oxysporum* به کار رفته در مطالعات گلخانه‌ای در گیاه گوجه‌فرنگی وجود دارد.

بحث

در آزمون کشت متقابل مشاهده شد که توان بیوکنترلی گونه‌های آنتاگونیست وابسته به نوع جدایه *Trichoderma*، شرایط دمایی و pH متفاوت می‌باشد. بنابراین با مقایسه دامنه فعالیت رشد قارچ بیمارگر، پایداری *T. harzianum* (Ah90) و *T. virens* (6011) در مقابل قارچ عامل بیماری از نظر حیات و سازگاری برتری نشان می دهد از طرفی پارامترهای محیطی مانند دما و pH بر جوانه‌زنی و رشد لوله تندش در گونه‌های آنتاگونیست، رشد میسیلیوم، توانایی رقابت ساپروفیتی مؤثر می‌باشد. سریع‌ترین رشد و کلنیزاسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۶/۵ در شرایط آزمایشگاهی رخ داد. در محل تماس ریسه جدایه‌های *Trichoderma* و عامل بیماری‌زا رشد میسلیوم‌های آن‌ها بسیار کم و اندک شده و میزان اسپور عامل بیماری‌زا در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرده بود. pHهای کمتر از ۴، رشد رویشی را در قارچ آنتاگونیست کاهش داده و شرایط را برای تولید کلامیدوسپور فراهم می‌کند.

از طرفی کاربرد آنتاگونیست در شرایط گلخانه‌ای به دلیل استقرار زودتر و جذب بهتر آب و عناصر غذایی توسط گیاه سبب افزایش سیستم رشدی گیاه گردید. در روش افزودن مایه *Trichoderma* به خاک قبل از کشت تأثیر بیشتری در کنترل بیماری نسبت به تزریق سوسپانسیون در خاک دارد زیرا حضور اسپورهای آنتاگونیست در حالت سوسپانسیون به مدت طولانی در اختیار ریشه قرار نگرفته و از دسترس ریشه خارج می‌گردد. در حالی که در کاربرد مایه تلقیح به صورت آغشته در خاک به طور معنی‌داری از پژمردگی گوجه‌فرنگی نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد که این نتایج با تحقیقات رمضانی (۸) مطابقت داشت.

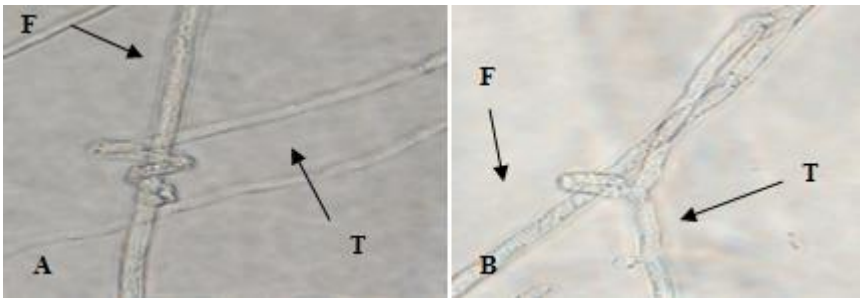
جدول ۱- میانگین درصد بازدارندگی از رشد و گروه‌بندی گونه‌های *Trichoderma* در کشت متقابل با *F. oxysporum* در سه سطح دمایی (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) و pH (٤، ٥ و ٦/٥) در محیط کشت PDA

Table 1- The mean percentage of inhibition of growth and classification of *Trichoderma* species in dual culture with *F. oxysporum* in three temperature levels (20, 25 and 30 ^{0}C) and pH (4, 5 and 6.5) in PDA

دما Temperature	pH	*T. koningii*	*T. atroviridae* (6022)	*T. atroviridae* (1-3)	*T. virens* (6011)	*T. harzianum* (Ah90)
20	4	$9.09^{ab} \pm 2.65$	$27.27^{a} \pm 2.63$	$09.09^{c} \pm 2.65$	$9.09^{cd} \pm 2.65$	$27.27^{bcd} \pm 3.99$
20	5	$8.53^{ab} \pm 1.76$	$20.73^{ab} \pm 1.79$	$26.82^{ab} \pm 0.00$	$32.92^{a} \pm 1.76$	$39.02^{b} \pm 0.00$
20	6.5	$8.33^{ab} \pm 2.40$	$5.00^{c} \pm 0.48$	$16.66^{bc} \pm 2.40$	$8.33^{cd} \pm 1.79$	$31.67^{bc} \pm 2.28$
25	4	$5.97^{ab} \pm 1.51$	$9.40^{bc} \pm 2.53$	$10.24^{c} \pm 1.40$	$4.27^{cd} \pm 0.76$	$14.52^{de} \pm 0.00$
25	5	$14.52^{ab} \pm 0.70$	$5.97^{c} \pm 0.24$	$07.69^{c} \pm 0.76$	$10.25^{cd} \pm 0.20$	$12.81^{de} \pm 0.49$
25	6.5	$16.66^{a} \pm 1.33$	$13.24^{bc} \pm 1.10$	$16.66^{bc} \pm 1.33$	$9.25^{cd} \pm 0.50$	$35.18^{b} \pm 2.67$
30	4	$1.70^{b} \pm 0.60$	$8.54^{bc} \pm 2.62$	$04.27^{c} \pm 0.76$	$2.56^{d} \pm 0.50$	$7.69^{f} \pm 2.41$
30	5	$6.34^{ab} \pm 1.60$	$3.96^{c} \pm 0.48$	$06.24^{c} \pm 1.37$	$12.69^{bc} \pm 0.20$	$20.63^{cde} \pm 2.80$
30	6.5	$9.93^{ab} \pm 0.35$	$13.03^{bc} \pm 0.89$	$30.43^{a} \pm 1.79$	$32.92^{a} \pm 1.76$	$58.33^{a} \pm 2.40$

اعداد با حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند

Values marked with the same letter are not significantly different (P<0.05)



شکل ۱- تأثیر رفتارهای میکوپارازیتیسم جدایه‌های *Trichoderma* بر ریسه بیمارگر *F. oxysporum*، A و B تشکیل ساختار حلقه‌مانند و پیچش به دور ریسه بیمارگر در *F. oxysporum* – *T. atroviridae* (1-3)، (بزرگ‌نمایی نمایی x٤٠٠)

Figure 1- The effect of *Trichoderma* mycoparasitism behavior mechanism on *F. oxysporum* hyphae. A and B ring like structure and twisting around pathogen mycelia of *F. oxysporum* by *T. atroviridae*(1-3) (x400)

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف در کارکرد گونه‌های *Trichoderma* و *F. oxysporum* بر روی میانگین وزن تر، خشک و ارتفاع گیاه به روش تزریق سوسپانسیون و روش اختلاط با خاک در شرایط گلخانه

Table 2- Comparison the mean effect of thevarious treatments in *Trichoderma* species and *F. oxysporum* on average fresh and dry weight and plant height by suspension injection and soil inoculation method in greenhouse

Treatment تیمار	Suspension injection method روش تزریق سوسپانسیون						Soil inoculation method روش تلقیح در خاک					
	Root fresh weight (g) وزن تر ریشه (گرم)	Shoot fresh weight (g) وزن تر اندام هوایی (گرم)	Root dry weight (g) وزن خشک ریشه (گرم)	Shoot dry weight (g) وزن خشک اندام هوایی (گرم)	Total dry weight (g) وزن خشک کل (گرم)	Plant height (cm) ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	Root fresh weight (g) وزن تر ریشه (گرم)	Shoot fresh weight (g) وزن تر اندام هوایی (گرم)	Root dry weight (g) وزن خشک ریشه (گرم)	Root dry weight (g) وزن خشک اندام هوایی (گرم)	Total dry weight (g) وزن خشک کل (گرم)	Plant height (cm) ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)
T. h (Ah90)	15.84^{a}	27.08^{a}	8.18^{a}	13.57^{a}	21.75^{a}	25.37^{a}	13.22^{a}	25.1^{a}	5.58^{a}	11.26^{a}	17.00^{a}	23.44^{a}
T. h (Ah90)+ *F. o*	15.24^{ab}	25.90^{ab}	7.56^{ab}	12.54^{ab}	19.60^{a}	24.10^{bc}	12.96^{a}	24.82^{a}	5.30^{a}	10.96^{a}	16.44^{a}	22.08^{ab}
T. v (6011)	15.32^{ab}	26.80^{a}	7.64^{ab}	13.00^{ab}	20.64^{a}	24.20^{ab}	13.32^{a}	23.14^{b}	4.62^{b}	9.32^{b}	13.88^{b}	20.50^{bc}
T.v (6011) + *F.o*	13.08^{c}	25.07^{abc}	5.34^{c}	11.46^{bc}	16.80^{b}	22.00^{c}	11.46^{b}	19.20^{de}	3.74^{c}	5.36^{d}	9.06^{d}	18.68^{d}
T. a (1-3)	13.46^{ab}	24.20^{bc}	5.78^{bc}	10.38^{cd}	16.16^{b}	22.48^{ab}	11.08^{b}	21.16^{c}	3.44^{c}	7.30^{c}	10.72^{c}	18.34^{d}
T. a (1-3)+ *F. o*	10.00^{d}	23.17^{c}	2.48^{d}	9.34^{de}	11.82^{c}	20.03^{d}	10.88^{b}	19.40^{d}	3.26^{c}	5.54^{d}	8.78^{d}	18.90^{cd}
Non infected control*	10.82^{d}	20.89^{d}	5.16^{c}	10.38^{cd}	15.54^{b}	19.56^{d}	8.16^{c}	18.20^{e}	0.47^{d}	7.14^{c}	7.60^{e}	17.26^{d}
Infected ** control	7.84^{e}	17.19^{e}	2.80^{d}	8.06^{e}	10.86^{c}	12.68^{e}	4.34^{d}	14.36^{f}	0.013^{d}	5.12^{d}	5.12^{f}	9.5^{e}
LSD	1.14	1.45	0.47	0.95	1.28	1.48	1.60	1.45	0.45	0.86	1.39	2.08

اعداد با حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

*،** به‌ترتیب فقط خاک استریل شده و خاک آلوده به قارچ *F. oxysporum* که فاقد سایر آنتاگونیست‌ها است

Values marked with the same letter are not statistically different (P<0.05)

*,**Respectively only sterile soil and the soil is contaminated with F. oxysporum which no other antagonists

این یافته‌های نوین در شرایط خاک پاستوریزه و نزدیک به شرایط طبیعی خاک توانایی قارچ *Trichoderma* را در شرایط همراه با عامل بیماریزا و سایر میکروارگانیسم‌ها در خاک در خصوص بازداری از رشد و توسعه به رشد بیشتر در برابر سایر عوامل مانند باکتری‌ها در خاک نشان از پایداری آن‌ها در شرایط تنش‌زا می باشد. بنابراین با در نظر گرفتن موارد فوق و نتایج حاصل از مطالعات گلخانه‌ای گونه *T. harzianum* (Ah90) جداسازی شده از مزارع جالیز استان خراسان، در دامنه دمایی ۳۳ درجه سانتی‌گراد و اسیدیته خاک ۶/۵ در کاربرد این قارچ به روش اختلاط با خاک به عنوان مناسب‌ترین گونه معرفی و منجر به کاهش بیماری و افزایش اندام رویشی گیاه در شرایط گلخانه گردید.

منابع

1- Abdollahi M, Ommati F., and Zaker M. 2012. The in vitro efficacy of *Trichoderma* isolates against *Pythium aphanidermatum*, the causal agent of sugar beet root rot. Journal of Research in Agricultural Science, 8: 79-87.

2- Baghani F., Rahnama K., Aqajani M.A., and Dehghan M.A. 2012. Biological control of *Fusarium* head blight (*Fusarium graminearum*) by application of three native *Trichoderma* species in field. Journal of Plant Production Researches, 19: 123-139.

3- Begoude B.A.D., Lahlali R., Friel D., Tondje P.R., and Jijakli H.M. 2006. Response surface methodology study of the combined effects of temperature, pH, and a_w on the growth rate of *Trichoderma asperellum*. Journal of Applied

Microbiology, 103: 845-854.

4- Clarkson J.P., Phelps K., Whipps J.M., Young C.S., Smith J.A., and Watling M. 2004. Forecasting *Sclerotinia* disease on lettuce: Toward developing a prediction model for carpogenic germination of *Sclerotinia*. Phytopathology, 94: 268-279.

5- Habibi R., Rahnama K., and Taghinasab M. 2015. Evaluating the effectiveness of native *Trichoderma* species in production of extracellular enzymes during interaction with plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Journal of Applied Research in Plant Protection, 4: 1-13.

6- Mahmoudi Sh., and Hakimian M. 2001. In Soil Basics translation. Tehran University Press. In: artistic D. feet. (Author), pp. 506- 554.

7- Najafi S., Mirseyed Hosseini M., and Alaee A. 2012. Study of the effect of micronutrient enriched sulfur fertilizer application in a calcareous soil. Journal of Water and Soil, 26: 95-103.

8- Ramezani H. 2010. Antagonistic effects of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* causal agent of tomato wilt. Plant Protection Journal, 2: 167-173.

9- Romero Arenas O., Huato M.Á.D., Treviño I.H., Parraguire Lezama J.F.C., García A.A., and Victoria Arellani A.D. 2012. Effect of pH on growth of the mycelium of *Trichoderma viride* and *Pleurotus ostreatus* in soild cultivation medium. African Journal of Agricultural Research, 7: 4724-4730.

10- Shahsavari A., Pyrdshty H., Motaghiyan A., and Tajik Ghanbari M.A. 2010. Response growth and yield characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) to the use of farmyard manure, *Trichoderma* species (*Trichoderma* spp.) and *Pseudomonas* (*Pseudomonas* spp.). Journal of Agro Ecology, 2: 448-458.