

اثر بازدارندگی از رشد پنج اسانس گیاهی و دو گونه قارچ آنتاگونیست *Trichoderma* روی برخی از گونه‌های بیماری‌زای گیاهی جنس *Fusarium*

سمیرا عنایتی^۱، مهدی داوری^۱✉، عزیز حبیبی ینگجه^۲، عسگر عباداللهی^۳

^۱گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ^۲گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ^۳گروه علوم گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ✉mdavari@uma.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۸

بازنگری: ۱۴۰۰/۹/۱۲

دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۴

چکیده

در پژوهش حاضر، توانایی بازدارندگی از رشد میسلیمی پنج اسانس گیاهی آویشن شیرازی، پونه کوهی، ترخون و دو گونه اسطوخودوس بر علیه جدایه‌های شش گونه مهم بیماری‌زای *Fusarium* شامل *Fusarium graminearum* UM29، *F. graminearum* UM89، *F. verticillioides*، *F. verticillioides*، *F. brasiliense*، *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* و *F. oxysporum* f. sp. *lentic*، *Trichoderma harzianum* و *T. viride*، در پنج غلظت (۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر) به روش اختلاط با محیط کشت PDA مورد بررسی قرار گرفتند. اجزای شیمیایی اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC-MS مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین تأثیر بازدارندگی از رشد گونه‌های *Trichoderma harzianum* T447 و *T. viride* T125 به دو روش کشت متقابل و اثر ترکیبات فرار آنها بررسی شد. نتایج آنالیز GC-MS نشان داد که تیمول و کارواکرول، ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی و نپتالاکتون و ۱،۸-سینئول ترکیبات اصلی پونه کوهی محسوب می‌شوند. اسانس آویشن شیرازی در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر، رشد میسلیمی اغلب گونه‌های *Fusarium* مورد بررسی را به طور کامل مهار نمود. نتیجه آزمایشات کشت متقابل تیمارها نشان داد بیشترین درصد بازدارندگی در تعامل بین جدایه *T. viride* و قارچ بیماری‌زای *F. brasiliense* با میانگین ۶۴/۷۸ درصد و کمترین مقدار آن در تعامل بین جدایه *T. harzianum* و قارچ بیماری‌زای *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* با میانگین ۳۶/۵۲ درصد می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، اسانس آویشن شیرازی و *T. harzianum* T447 و *T. viride* T125 پتانسیل بالایی در بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ‌های مورد بررسی از جنس *Fusarium* داشتند. ارزیابی‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای جهت بررسی کارایی آنها در کنترل این بیماری‌ها ضروری می‌باشد.

کلمات کلیدی: اسانس، تأثیر آنتاگونیستی، مهار رشدی، *Trichoderma* spp.، *Fusarium* spp.

Mycelial inhibitory effects of five essential oils and two antagonistic *Trichoderma* species against some plant pathogenic *Fusarium* species

Samira Enayati¹, Mahdi Davari¹✉, Aziz Habibi-Yangjeh², Asgar Ebadollahi³

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ²Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

³Department of Plant Sciences, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ✉mdavari@uma.ac.ir

Received: 15 Nov 2021

Revised: 3 Dec 2021

Accepted: 17 Feb 2022

Abstract

In this study, inhibitory effects of five plant essential oils (EOs), including *Zataria multiflora*, *Nepeta* sp., *Lavandula stoechas*, *L. officinalis* and *Artemisia dracunculus*, on *Fusarium graminearum* UM29, *F. graminearum* UM89, *F. verticillioides*, *F. brasiliense*, *F. oxysporum* f. sp. *lentic*, and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* and two antagonistic fungi *Trichoderma harzianum* and *T. viride* at five concentrations (75, 150, 300, 600 and 1000 µl/l) by mixing with PDA medium was studied. The chemical composition of EOs was explored by GC-MS. Also, the inhibitory effect of *Trichoderma* (*T. harzianum* T447 and *T. viride* T125) was investigated by dual culture assay and the effect of volatile compounds methods. Based on GC-MS results, thymol and carvacrol were identified as main constituents of *Z. multiflora* EO, and Nepetalactone and 1,8-cineole were the major components of *Nepeta* sp. EO. *Zataria multiflora* EO at concentration of 300 µl/l completely inhibited mycelial growth of the majority of *Fusarium* species evaluated in this study. The results of dual culture assay revealed the highest percentage of inhibition in the interaction between *T. viride* and *F. brasiliense* with a mean of 64.78% and the lowest in the interaction between *T. harzianum* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* with a mean of 36.52%. According to our results, *Z. multiflora* EO and *T. harzianum* T447 and *T. viride* T125 had high mycelial growth inhibitory potential against *Fusarium* spp. Greenhouse and field assays are necessary to further evaluate their efficacy in control of these plant pathogens.

Keywords: Essential oils, *Fusarium graminearum*, *Trichoderma* spp, *Zataria multiflora*

How to cite:

Enayati S, Davari M, Habibi-Yangjeh A, Ebadollahi A, 2023. Mycelial inhibitory effects of five essential oils and two antagonistic *Trichoderma* species against some plant pathogenic *Fusarium* species. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (4): 29–42.

مقدمه

گونه‌های جنس *Fusarium* از عوامل بیماری‌زای گیاهی مهم و اقتصادی به شمار می‌روند که انواع بیماری‌های گیاهی از قبیل پژمردگی، پوسیدگی ریشه و سوختگی سنبله را در گیاهان مختلف ایجاد می‌کنند. گونه قارچی *Fusarium Schwabe graminearum* عامل سوختگی فوزاریومی سنبله گندم (*Fusarium Head Blight, FHB*) علاوه بر کاهش شدید عملکرد گندم و سایر غلات دانه‌ریز، به دلیل تولید زهرابه‌های قارچی، خطرات زیادی را برای سلامتی انسان و دام ایجاد می‌کند (Davari et al. 2016). قارچ *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg به‌عنوان عامل پوسیدگی فوزاریومی بلال، ساقه و ریشه ذرت در مناطق اصلی کشت ذرت در دنیا و ایران گزارش شده است (Rahjoo et al. 2008). همچنین یکی از بیماری‌های مهم جو، بیماری سوختگی فوزاریومی جو با عامل قارچی *T. F. brasiliicum* Aoki, Kistler, Geiser & O'Donnell Yang نقش مهمی در کاهش محصول در برخی کشورها دارد (et al. 2008).

بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس ناشی از *F. oxysporum* f. sp. *lentis* W.L. Gordon یکی از بیماری‌های قارچی مهم عدس می‌باشد که در تمامی مناطق کشت عدس به جز استرالیا شیوع داشته و به‌عنوان یکی از عوامل اصلی محدود کننده کشت در برخی مناطق مطرح است (Taylor et al. 2007). پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی که به وسیله قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* W.C. Snyder & H.N. Hansen ایجاد می‌شود، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های این گیاه در سرتاسر جهان و از جمله در کشور ایران می‌باشد و باعث ایجاد خسارت شدید اقتصادی در مزارع گوجه‌فرنگی می‌شود (Amini & Sidovich Parsa et al. 2018; 2010; Singh et al. 2015).

از روش‌های مختلف مدیریت بیماری‌های ناشی از *Fusarium* می‌توان به کاشت ارقام مقاوم، تناوب زراعی و کنترل شیمیایی اشاره کرد. افزایش نگرانی‌ها درباره اثرات منفی مصرف بی‌رویه قارچ‌کش‌ها در سلامتی انسان و آلودگی‌های زیست محیطی، تأثیر کم روش‌های شیمیایی به‌خصوص در کنترل بیماری‌های خاکزاد و گسترش مقاومت به قارچ‌کش‌ها، زمینه را برای یافتن جایگزین‌های مناسب برای سموم شیمیایی و دستیابی به کشاورزی پایدار فراهم نموده است (Reimann & Deising 2000; Gupta & Dikshit 2010). از طرف دیگر، عدم معرفی رقم کاملاً مقاوم به اغلب بیماری‌های فوزاریومی، تلاش برای استفاده از راهکارهای جدید برای مدیریت این بیماری‌ها را ضروری

می‌سازد (Vinal et al. 2008; Wegulo et al. 2015). در ساهای اخیر، اثرات ضد قارچی و ضد میکروبی تعدادی از اسانس‌های گیاهی بر برخی از بیمارگرهای گیاهی با روش‌های مختلف از جمله ارزیابی‌های برون‌تنی (*in vitro*) مانند مهار رشد میسلیم و درون‌تنی (*in vivo*) بررسی و به اثبات رسیده است (Raveau et al. 2020; Chang et al. 2022). همچنین کنترل زیستی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی با استفاده از قارچ آنتاگونیست *Trichoderma* از روش‌های مطلوب دیگر در این خصوص محسوب می‌شود (Narmani et al., 2019; Alizadeh et al. 2020). ارزیابی آزمایشگاهی اثرات ضدقارچی اسانس‌های گیاهی و آنتاگونیست‌ها روی جدایه‌های بیماری‌زای هر منطقه برای بکارگیری آن‌ها در مدیریت تلفیقی بیماری‌های گیاهی پس از تحقیقات تکمیلی دیگر، ضروری به‌نظر می‌رسد.

اسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی و حاوی انواع مختلفی از ترکیبات شیمیایی از جمله هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، کتون‌ها و آلدئیدها هستند (Raveau et al. 2020). این ترکیبات به دلیل ماهیت چربی‌دوست و وزن مولکولی کم قادرند با اختلال در نفوذپذیری غشاء و تعادل اسمزی سلول، آسیب ساختاری و عملکردی در سلول قارچ‌ها و میکروب‌ها ایجاد کنند (Kalagatur et al. 2015). در سال‌های اخیر، استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنترل بیماری‌های گیاهی به‌عنوان یک روش مؤثر و بی‌خطر مورد توجه قرار گرفته است (Mutlu-Ingok et al. 2020). به‌عنوان مثال، اثرات ضدقارچی اسانس گیاهی آویشن شیرازی، اوکالیپتوس، زیره سبز، گلپر، رازیانه و آساروم علیه گونه‌های *F. (Wm.G. Sm.) Sacc. F. graminearum*، *F. oxysporum*، *F. verticillioides*، *F. culmorum* و *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. *trichothecioides* Wollenw. *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ثابت شده است (Mutlu-Ingok Naeini et al. 2010; Davari & Ezazi 2017; Xiao et al. 2021; et al. 2020).

راهکار کم‌خطر دیگری که گسترش آن برای مبارزه با بیمارگرهای گیاهی توصیه می‌شود، استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید از جمله قارچ‌های آنتاگونیست است که می‌تواند یک جایگزین امیدبخش برای سموم شیمیایی باشد (Davari & Ezazi 2016; Narmani et al. 2019; Alizadeh et al. 2020; Varma et al. 2007; al. 2020). گونه‌های جنس *Trichoderma* spp.) از قارچ‌های مهمی هستند که به‌عنوان عوامل زیستی مؤثر در مهار زیستی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی محسوب می‌گردند. این جنس قارچی برای کنترل بیمارگرهای

چهار درجه سلسیوس تا زمان استفاده نگهداری شدند (Davari & Ezazi 2016).

تجزیه و شناسایی ترکیبات شیمیایی/اسانس‌ها

برای شناسایی ترکیبات طبیعی اسانس‌ها، از دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل HP 7890B مجهز به ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، گاز حامل هلیوم (درصد خلوص ۹۹/۹۹۹٪) با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه، متصل به طیف‌سنج جرمی مدل Agilent-MSD5975C و سیستم آشکارساز طیف‌سنج جرمی مدل ۵۹۷۷ A استفاده گردید. دمای محفظه تزریق روی ۲۵۰ درجه سلسیوس تنظیم و هر اسانس به میزان یک میکرولیتر تزریق شد. دمای ستون برای سه دقیقه در ۵۰ درجه سلسیوس نگهداری و تا ۱۸۰ درجه سلسیوس افزایش یافت و سپس برای دو دقیقه در ۱۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس‌ها با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه (Wiley 7n 0.1 (Wiley, NY) و (Standard Reference Data, Gaithersburg NIST) صورت گرفت (Davari & Ezazi 2016).

تهیه قارچ‌های بیمارگر

در این تحقیق، شش جدایه بیماریزای جنس *Fusarium* که از گیاهان بیمار جداسازی و به روش‌های ریخت‌شناختی و مولکولی شناسایی شده بودند، از کلکسیون قارچ‌شناسی دانشگاه محقق اردبیلی انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. برخی از جدایه‌ها علاوه بر این، در کلکسیون قارچ‌های زنده مرکز قارچ‌شناسی آکادمی علوم کشور هلند (CBS) نیز نگهداری می‌شوند (جدول ۱).

تهیه قارچ‌های آنتاگونیست

دو جدایه استاندارد شامل *Trichoderma harzianum* Rifai T447 تهیه شده از کلکسیون قارچ‌شناسی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و *T. viride* Pers. T125 اهدا شده از دانشگاه زنجان برای آزمون‌های مهار زیستی مورد استفاده قرار گرفتند.

بذرزاد و خاکزاد و نیز افزایش رشد و عملکرد گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Xue et al. 2017; Azimi et al. 2021; (Dennis & Webster 1971a; Kianivafa et al. 2021).

هرچند که نتایج آزمایشات در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی بویژه در مورد مایکوپارازیت‌ها به علت متفاوت بودن شرایط تحت کنترل در این آزمون‌ها و شرایطی که در طبیعت حاکم است، با اطمینان بالا قابل تعمیم به شرایط میدانی نیست، اما آزمون‌های آزمایشگاهی روی محیط‌های کشت و در شرایط تحت کنترل از این جهت حائز اهمیت است که با انجام یک سری از آزمایش‌ها و آگاهی از نقش و اهمیت آنها در ممانعت از رشد و توسعه قارچ‌های بیماریزا، زمینه را برای انجام مطالعات میدانی فراهم می‌کند (Khodaei et al. 2015). همچنین با توجه به اینکه واکنش گونه‌های مختلف قارچی در برابر انواع اسانس‌های گیاهی متفاوت است (Davari & Ezazi 2017) و با توجه به خسارت اقتصادی ایجاد شده توسط گونه‌های *Fusarium* روی گیاهان مختلف در ایران، در پژوهش حاضر، اثرات بازدارندگی پنج اسانس گیاهی روی رشد میسلیمی شش گونه بیماریزای گیاهی از جنس *Fusarium* بررسی گردید. برای مقایسه، اثرات آنتاگونیستی دو گونه *Trichoderma* نیز به دو روش کشت متقابل و تأثیر ترکیبات فرار روی قارچ‌های بیماریزای فوق ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهان دارویی و استخراج اسانس

اسانس‌های آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و اسطوخودوس فرانسوی (*Lavandula stoechas* L.) از شرکت باریج اسانس کاشان خریداری شدند. گیاه پونه‌کوهی (*Nepeta* sp. از منطقه حیران اردبیل و گیاه اسطوخودوس انگلیسی (*L. officinalis* L.) از محوطه دانشگاه محقق اردبیلی جمع‌آوری شدند و گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus* L.) از سبزی‌فروشی سطح شهر خریداری شد. نمونه‌های گیاهی بعد از شستشو و خشک شدن در شرایط سایه و در دمای اتاق، آسیاب شده و با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب مقطر طی چهار ساعت اسانس‌گیری شدند. در هر مرحله اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم گیاه خشک شده و ۸۰۰ سی‌سی آب مقطر به داخل بالن حجمی اضافه شد. اسانس‌های استخراج شده در ظروف شیشه‌ای که با فویل آلومینیومی پوشانده شده بودند، در دمای

جدول ۱. مشخصات جدایه‌های قارچی بیمارگر، میزبان و محل جداسازی.

Table 1. Characteristics of fungal pathogen isolates, host and isolation site.

Host	Location	Isolate code	Species
Wheat	Kalaleh Golestan	UM89 (CBS131571)	<i>F. graminearum</i>
Wheat	Netherland	UM29 (CBS 389.62)	<i>F. graminearum</i>
Tomato	Tabriz	UM56	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
Lentil	Bileh Savar	UM60	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lentis</i>
Corn	Germany	UM7 (CBS 218.76)	<i>F. verticillioides</i>
Barley	Brazil	UM20 (CBS119179)	<i>F. brasiliicum</i>

بررسی اثر بازدارندگی اسانس‌ها در شرایط آزمایشگاهی

اثر ضدقارچی اسانس‌های استخراج شده روی شش گونه بیماریزای جنس *Fusarium* به روش اختلاط با محیط کشت بررسی شد (Lahouji et al. 2010). به این منظور، از اسانس‌های مورد نظر در محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد)، امولسیون تهیه شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت عصاره سیب زمینی آگار (PDA, Merck, Germany) پس از استریل در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه، در دمای اتاق قرار داده شد تا دمای آنها به ۴۵-۴۲ درجه سلسیوس برسد. سپس غلظت‌های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر محیط کشت، به فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA اضافه و به هم زده شد تا امولسیون یکنواخت به وجود آید. محیط‌های کشت حاصل، بلافاصله درون تشتک‌های پتری به قطر ۹ سانتی‌متر تقسیم و اجازه داده شد تا محیط منعقد گردد. سپس قرص‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن از کشت‌های پنج روزه قارچ‌های مذکور تهیه و در قسمت وسط تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت حاوی اسانس قرار داده شد. تشتک‌های پتری مایه‌زنی شده در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، رشد رویشی پرگنه هر قارچ به طور روزانه و تا زمانی که سطح محیط کشت در تشتک‌های پتری تیمار شاهد توسط قارچ به طور کامل پوشش داده شد، اندازه‌گیری شد.

در انجام این آزمایش برای هر تیمار، سه تکرار در نظر گرفته شد. همچنین محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد (Davari & Ezazi 2016). درصد بازدارندگی از رشد تیمارها با استفاده از فرمول آبوت (IP = C-) $IP = \frac{T}{C} \times 100$ تعیین گردید که در آن $\frac{T}{C}$ = Inhibitory percentage، درصد بازدارندگی از رشد قارچ‌ها، C میانگین قطر رشدی قارچ در تیمار شاهد و T میانگین قطر رشدی قارچ در

تیمار مورد نظر می‌باشد. به منظور بررسی خاصیت قارچکشی یا قارچ‌ایستایی اسانس، قرص قارچی در تیمارهایی که فاقد رشد بودند، برداشته شد و به محیط کشت جدید PDA فاقد مواد بازدارنده منتقل گردید و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته نگهداری شد. پس از آن، در صورت رشد قارچ روی محیط کشت، اسانس به‌عنوان قارچ‌ایستا و در صورت عدم رشد قارچ به عنوان قارچ‌کش مد نظر قرار گرفت.

بررسی توانایی مهار رشد میسلیمی قارچ‌های آنتاگونیست به روش کشت متقابل در شرایط آزمایشگاهی

برای بررسی قابلیت مهار رشد میسلیمی گونه‌های قارچ‌های آنتاگونیست روی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی به روش کشت متقابل، قرص‌های میسلیمی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه کشت‌های در حال رشد فعال از هر گروه از قارچ‌های بیمارگر و جدایه‌های *Trichoderma* برداشته شد و به فاصله هشت سانتی‌متر از همدیگر روی محیط کشت PDA قرار داده شد. سپس تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. اندازه‌گیری شعاع پرگنه‌های قارچی که به سمت یکدیگر در حال رشد بودند، تا زمانی که پرگنه شاهد به نزدیک لبه تشتک پتری برسد، انجام شد (Dennis & Webster 1971a, Xue et al. 2017). این آزمایش برای هر قارچ بیمارگر و قارچ آنتاگونیست در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) انجام شد.

بررسی فعالیت بیوکنترلی قارچ‌های آنتاگونیست به روش تأثیر ترکیبات فرار در شرایط آزمایشگاهی

برای بررسی تأثیر ترکیبات فرار قارچ‌های آنتاگونیست روی رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، تشتک‌های پتری حاوی

در اسطوخودوس فرانسوی (*L. stoechas*)؛ ۱.۸-سینثول (۳۳/۷۲٪) و بورنتول (۱۶/۲۹٪) از ترکیبات اصلی در اسطوخودوس انگلیسی (*L. officinalis*) و استراگول (۸۲/۲۰٪) ترکیب شاخص در ترخون (*A. dracunculus*) شناخته شد (جدول ۲). Sayyah et al. (2004) با آنالیز ترکیبات اسانس ترخون دریافتند که بیشترین ترکیب، مربوط به آنتول (۲۱/۱٪) و سپس اوسیمین (۲۰/۶٪)، لیمونن (۱۲/۴٪) و پاینن (۵/۱٪) می‌باشد. در تحقیقی دیگر، ترکیبات سابینن (۴۲/۳۸٪) و ایزوالمیسین (۱۲/۹۱٪) جزء ترکیبات مؤثر در اسانس *A. dracunculus* شناسایی شدند (Fildan et al. 2019) که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد و می‌تواند ناشی از عوامل مختلف داخلی و خارجی مؤثر در گیاه از قبیل شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی، ماهیت ژنتیکی گیاه و تفاوت در عناصر موجود در خاک آنها باشد (Grulova et al. 2015).

تأثیر اسانس آویشن شیرازی بر رشد میسلیومی قارچ‌های بیماریزا و آنتاگونیست

نتایج حاصل از بررسی اثر ضدقارچی اسانس آویشن شیرازی روی قارچ‌های مورد مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود با افزایش میزان غلظت اسانس، کاهش بیشتری در رشد قارچ‌های مورد بررسی رخ می‌دهد. در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر، بازدارندگی صد در صدی بر رشد میسلیومی قارچ‌های *F. graminearum*، *F. brasiliicum* (UM29, UM89) و *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* دیده شد. در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر در تمامی قارچ‌های بررسی شده، مهار کامل رشدی آنها ایجاد گردید. در بررسی ویژگی قارچ‌کشی یا قارچ‌ایستایی اسانس هم معلوم شد که اسانس این گیاه در غلظت ۶۰۰ میکرولیتر بر لیتر روی رشد قارچ‌های بیماری‌زای *F. graminearum*، *F. brasiliicum*، *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*، UM29 و UM89 و *F. oxysporum* f. sp. *lentis* و در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر بر علیه هر شش گونه مورد بررسی و هر دو گونه قارچ آنتاگونیست دارای فعالیت قارچ‌ایستایی است.

محیط‌کشت PDA با قارچ *Trichoderma* و بیمارگر به صورت جداگانه و همزمان مایه‌زنی شد، پس از گذشت ۴۸ ساعت و رشد قارچ‌های آنتاگونیست و قارچ‌های بیماری‌زا، درون هود لامینار و کنار شعله رو به روی هم قرار داده شده و شکاف بین دو تشتک پتری با استفاده از نوار پارافیلیم به منظور جلوگیری از خروج مواد فرار تولید شده به وسیله قارچ آنتاگونیست، مسدود شد. سپس تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس منتقل و قطر پرگنه قارچ بیمارگر به طور منظم اندازه‌گیری شد و درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول آبوت محاسبه شد (Dennis & Webster 1971b). بازدارندگی ۵۰ درصدی ($IP_{50} =$ Inhibitory Percentage) با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ورژن ۲۴) به دست آمد. این آزمایش هم در سه تکرار در قالب طرح کامل تصادفی انجام گرفت.

نتایج و بحث

شناسایی ترکیبات اصلی موجود در اسانس‌های مورد بررسی

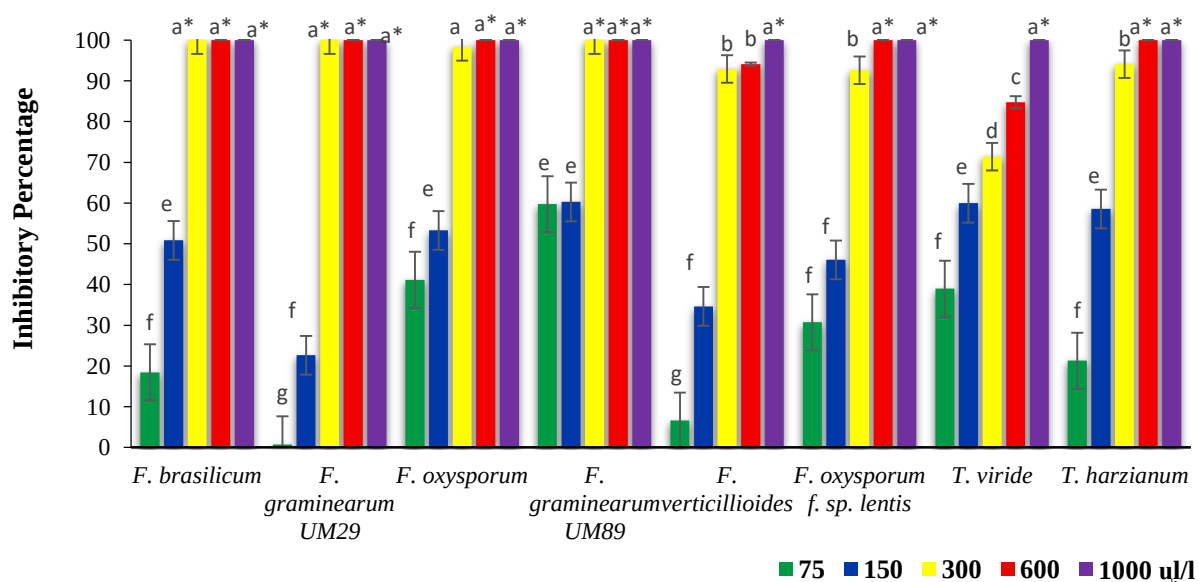
شناسایی ترکیبات اسانس گیاهان مورد استفاده در این پژوهش با دستگاه آنالیز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی (GC-MS) نشان می‌دهد که ترکیبات تیمول (۳۶/۱۸ درصد) و کارواکرول (۳۲/۵۳ درصد)، اجزای اصلی شناسایی شده در اسانس آویشن شیرازی (*Z. multiflora*) هستند. در تحقیقات پیشین نیز تیمول و کارواکرول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی گزارش شده است (Mahboubi Lahouji et al. 2010; et al. 2017; Moazeni et al. 2021). هر دوی این ترکیبات، جزو ترکیبات فنلی بوده و از عوامل قوی ضد میکروبی هستند (Lahouji et al. 2010; Naeini et al. 2010; در واقع، ترکیبات فنلی موجود در اسانس‌های گیاهی، بیشترین تأثیر را در ایجاد خاصیت ضد میکروبی دارند (Lahouji et al. 2010). همچنین نپتالاکتون (۳۹/۲۳٪) و کریپتون (۹/۱۶٪)، ترکیبات عمده شناسایی شده در پونه کوهی (*Nepeta* sp.) بودند.

در تحقیقات قبلی گزارش شده که ترکیبات عمده در پونه کوهی یزد، ۸۰۱-سینثول (۳۵/۲٪) و پاینن (۲۱/۷٪)، در پونه کوهی قهرودی، اسپاتولنول (۲۵/۷٪) و لیمونن (۶/۴٪) و در پونه کوهی تنک، پاینن (۱۹/۷٪) و ۸۰۱-سینثول (۱۱/۸٪) هستند (Batoli & Safaei Ghomi 2012). در پژوهش حاضر، ترپینولن (۲۳/۶۱٪) و نوپیل استات (۱۲/۹۴٪) از ترکیبات اصلی

جدول ۲. نوع و درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس‌های گیاهی مورد آزمایش.

Table 1. Type and percent of main components identified in studied essential oils.

Compound	RT (min)	Percent (%)
<i>Z. multiflora</i> EO		
Thymol	14.695	36.18
1-Carvacrol	15.129	32.53
p-cymene	7.033	7.52
γ -Terpinene	7.697	5.28
α -Pinene	5.333	3.02
<i>Nepeta</i> sp. EO		
Nepetalactone	17.640	39.23
Crypton	18.448	9.16
1,8-Cineole	7.176	6.82
β -Ocimene	7.250	4.85
β -Pinene	6.117	4.09
<i>L. stoechas</i> EO		
Terpinolene	16.892	23.61
Nopyl acetate	19.421	12.94
α -Pinene	5.282	8.84
dl-Limonene	7.067	6.32
<i>L. officinalis</i> EO		
1,8-Cineol	7.245	33.72
Borneol	10.420	16.29
Anisylidencampher	9.857	8.39
Linalool	8.595	5.70
<i>A. dracunculus</i> EO		
Estragole	11.616	82.20
α -Ocimene	7.262	4.74
β -Ocimene y	7.462	3.82



شکل ۱. مقایسه میانگین درصدهای بازدارندگی از رشد میسلیم‌های اسانس آویشن شیرازی.

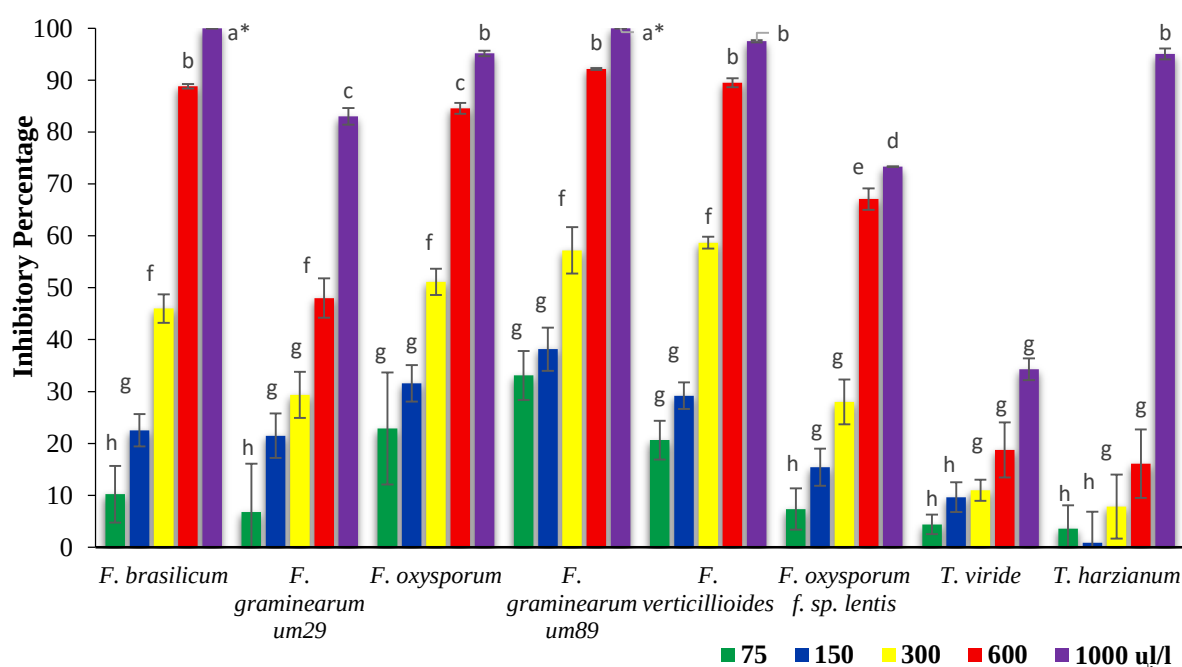
* خاصیت قارچ‌ایستایی

Figure 1. Comparison of average inhibitory percentages of *Zataria multiflora* essential oils.

*Fungistatic effect

تأثیر اسانس پونه کوهی بر رشد میسلیمی قارچ‌ها

نتایج نشان داد که اسانس پونه کوهی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، به طور کامل رشد میسلیمی دو گونه *F. brasiliicum* و *F. graminearum* UM29 را مهار نمود، هر چند که تأثیر آن از نوع قارچ‌ایستایی بود. این اسانس در روز ششم بیشترین تأثیر بازدارندگی از رشد را روی گونه‌های *F. graminearum* UM89 و *T. viride* نیز در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر به ترتیب ۹۵ و ۳۴ درصد بود (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه میانگین درصد‌های بازدارندگی از رشد میسلیمی اسانس پونه کوهی *Nepeta* sp.

* خاصیت قارچ‌ایستایی

Figure 2. Comparison of average inhibitory percentages of *Nepeta* sp. essential oils.

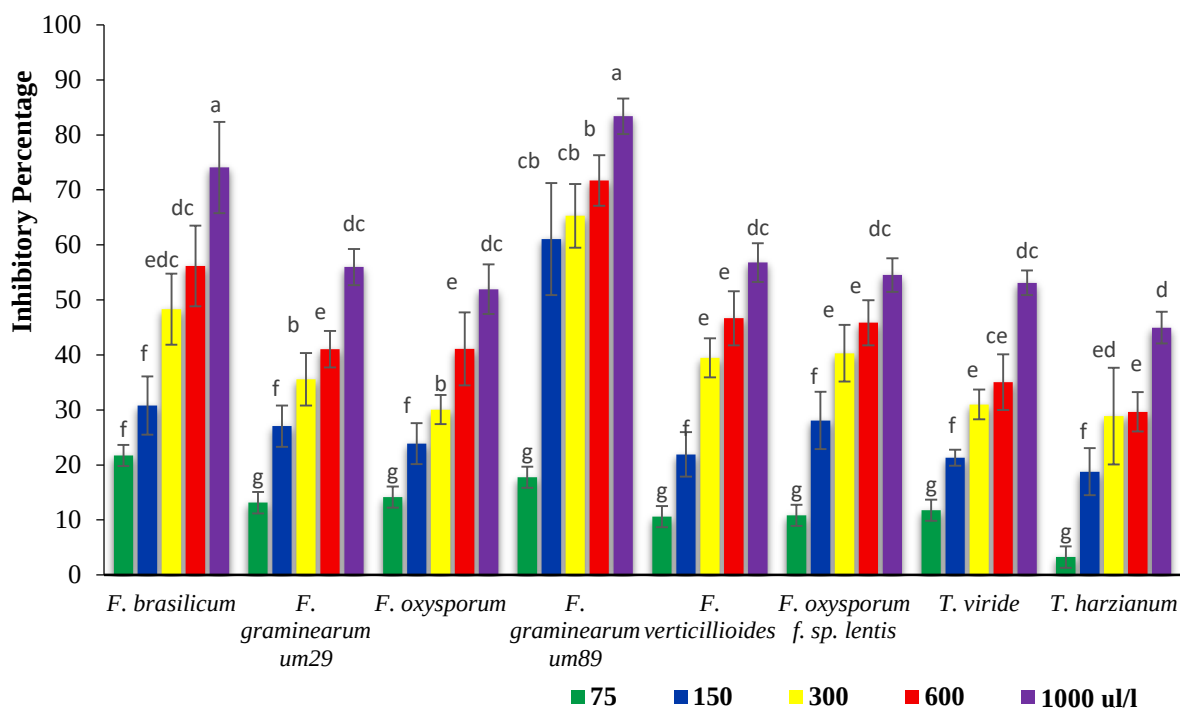
*Fungistatic effect

تأثیر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس فرانسوی بر رشد میسلیمی قارچ‌ها

نتایج بررسی اثر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس فرانسوی نشان داد که بیشترین تأثیر بازدارندگی این اسانس در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر بر رشد میسلیمی گونه *F. graminearum* UM89 و کمترین تأثیر بر رشد میسلیمی گونه *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (۵۱/۹۴٪) بود (شکل ۳). اثر بازدارندگی از رشد این اسانس بر رشد میسلیمی دو قارچ آنتاگونیست *T. viride* و *T. harzianum* در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر نیز به ترتیب ۵۳ و ۴۴ درصد بود (شکل ۳).

تأثیر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس فرانسوی بر رشد میسلیمی قارچ‌ها

نتایج بررسی اثر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس فرانسوی نشان داد که بیشترین تأثیر بازدارندگی این اسانس در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر بر رشد میسلیمی گونه *F. graminearum* UM89 و کمترین تأثیر بر رشد میسلیمی گونه *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (۵۱/۹۴٪) بود (شکل ۳). اثر بازدارندگی از رشد این اسانس بر رشد میسلیمی دو قارچ آنتاگونیست *T. viride* و *T. harzianum* در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر نیز به ترتیب ۵۳ و ۴۴ درصد بود (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه میانگین درصدهای بازدارندگی از رشد میسلیومی اسانس اسطوخودوس فرانسوی *Lavandula stoechas*

Figure 3. Comparison of average inhibitory percentages of *Lavandula stoechas* essential oils.

۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، بازدارندگی این اسانس روی رشد گونه‌های *F. graminearum*، *F. oxysporum* f. sp. *lentis* و *UM29* به *F. brasiliicum* و *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ترتیب ۵۹، ۵۰، ۵۱ و ۴۸ درصد است. اثر بازدارندگی اسانس این گیاه روی رشد میسلیومی قارچ‌های آنتاگونیست *T. viride* و *T. harzianum* در روز چهارم در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر نیز به ترتیب ۵۹ و ۴۹ درصد است (شکل ۵).

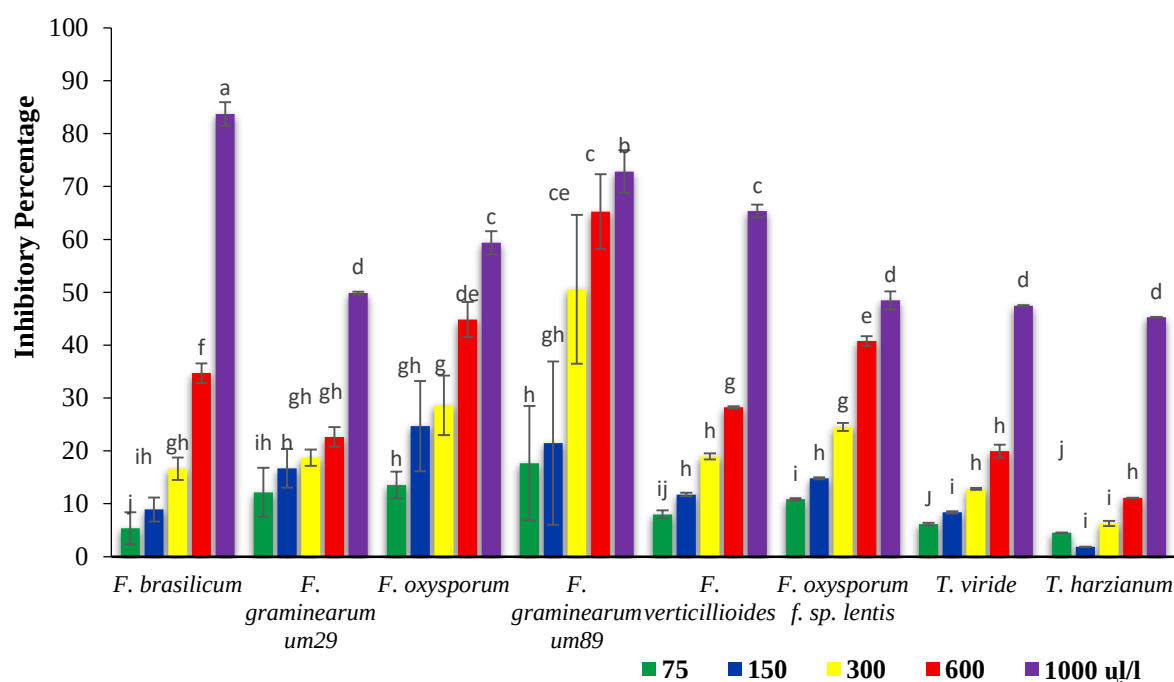
در این تحقیق، نتایج حاصل از تأثیر اسانس‌های گیاهی روی قارچ‌های مورد بررسی نشان داد که اسانس آویشن شیرازی، بیشترین خاصیت ضد قارچی را دارا می‌باشد و اسانس ترخون نسبت به اسانس‌های دیگر، ضعیف‌ترین تأثیر را بر قارچ‌های بیماری‌زا داشت. در تحقیق دیگری هم که اثر ضد قارچی چندین گونه از جنس *Artemisia* مورد بررسی قرار گرفته بود، ضعیف‌ترین عملکرد، متعلق به گونه *A. dracunculus* بود (Kordali et al. 2005). تحقیقات دیگر هم نشان داده است که حساسیت گونه‌های قارچی بر اساس نوع اسانس و غلظت آن متفاوت است (Xiao et al. 2021) و در پژوهش حاضر نیز این نتیجه حاصل شد.

تأثیر بازدارندگی اسانس اسطوخودوس انگلیسی بر رشد میسلیومی قارچ‌ها

نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اسانس اسطوخودوس انگلیسی کمترین تأثیر بازدارندگی از رشد را روی قارچ‌های بررسی شده داشت و در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، بازدارندگی کامل علیه هیچ‌کدام از قارچ‌های مورد بررسی نشان نداد و بیشترین بازدارندگی در این غلظت بر رشد میسلیومی قارچ بیماری‌زای *F. graminearum* (UM89) به میزان ۷۲/۸۰ درصد بود. همچنین در غلظت‌های پایین‌تر از ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، بازدارندگی قابل توجهی در مورد اکثر قارچ‌های مورد بررسی ملاحظه نشد (شکل ۴). در مورد دو قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* و *T. viride* تأثیر این اسانس گیاهی در روز چهارم رشد، در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، به ترتیب ۲۷ و ۲۲ درصد بود (شکل ۴).

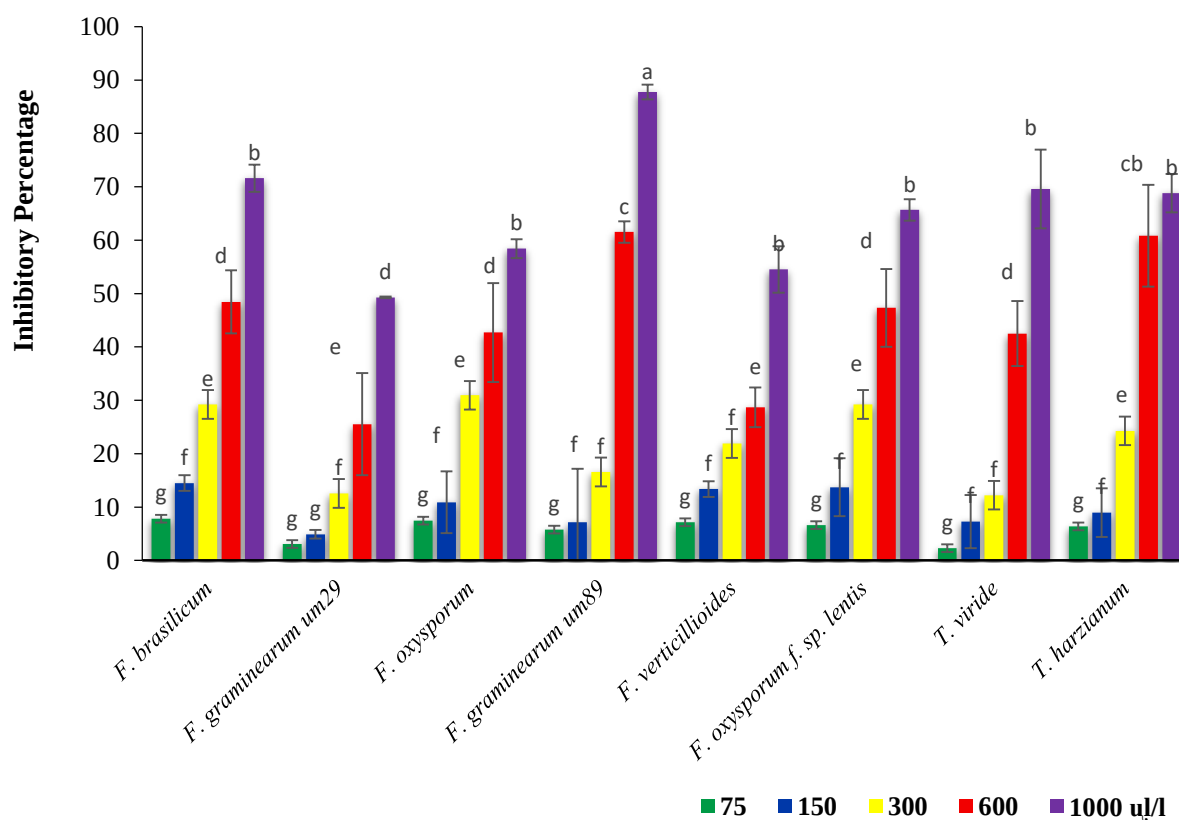
تأثیر بازدارندگی اسانس ترخون بر رشد میسلیومی قارچ‌ها

نتایج به‌دست آمده از بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس ترخون روی رشد قارچ‌های مورد بررسی نشان داد که خاصیت ضد قارچی اسانس مذکور بر علیه قارچ‌های مورد بررسی نسبتاً ضعیف می‌باشد (شکل ۵)، به‌طوری‌که در روز ششم در غلظت



شکل ۴. مقایسه میانگین درصد‌های بازدارندگی از رشد میسلیم‌های اسانس اسطوخودوس انگلیسی *Lavandula officinalis*

Figure 4. Comparison of average inhibitory percentages of *L. officinalis* essential oils.



شکل ۵. مقایسه میانگین درصد‌های بازدارندگی از رشد میسلیم‌های اسانس ترخون *Artemisia dracunculus*

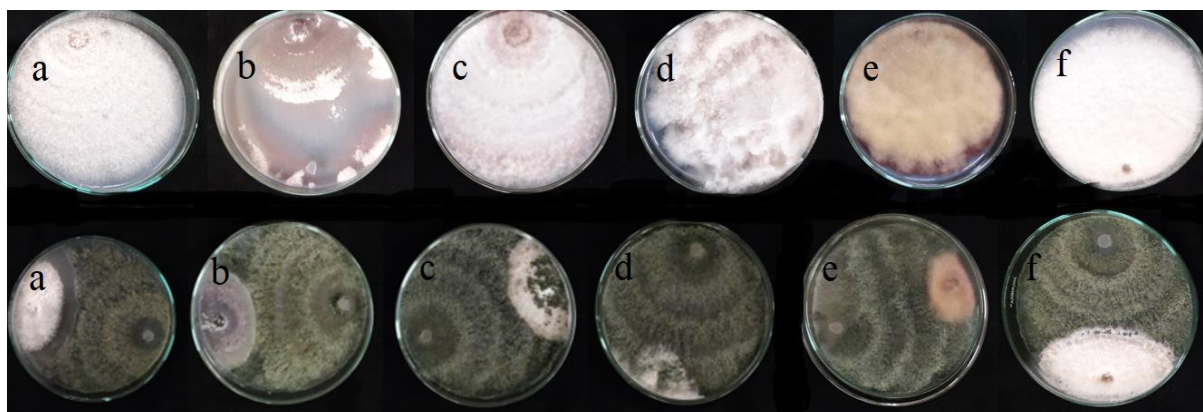
Figure 5. Comparison of average inhibitory percentages of *Artemisia dracunculus* essential oils.

شد. جدایه *T. harzianum* بیشترین بازدارندگی را علیه قارچ *F. graminearum* UM89 با میانگین ۶۰/۴۷٪ نشان داد و سایر قارچ‌ها از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۸a). همچنین نتایج نشان داد که قارچ *T. harzianum* در مقابل قارچ‌های بیماری‌زای *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* و *F. oxysporum* f. sp. *lentis* تشکیل هاله بازدارنده رشد می‌دهد و مانع اسپورزایی این قارچ‌های بیماری‌زا در قسمت هاله می‌شود. همچنین در تقابل با قارچ‌های بیماری‌زای *F. brasiliicum* و *F. graminearum* UM89، اسپورهای این قارچ آنتاگونیست روی هیف‌های این دو قارچ بیماری‌زا پخش شده و مانع رشد و گسترش آن‌ها می‌شوند (شکل ۶).

تأثیر مهار رشد میسلیمی قارچ‌های آنتاگونیست روی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

نتایج حاصل از ارزیابی اثرات متقابل قارچ‌های آنتاگونیست روی رشد رویشی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی نشان داد که قارچ‌های آنتاگونیست توانستند به طور معنی‌داری رشد قارچ‌های بیمارگر را نسبت به تیمار شاهد کاهش دهند (شکل ۶).

مقایسه میانگین مقادیر بازدارندگی از رشد در تیمارها با استفاده از آزمون توکی نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی در تعامل بین جدایه *T. viride* و گونه بیماری‌زای *F. brasiliicum* (۶۴/۷۸٪) و کمترین میزان بازدارندگی رشد در مورد قارچ بیماری‌زای *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* در تعامل با جدایه *T. harzianum* با میانگین ۳۶/۵۲٪ محاسبه



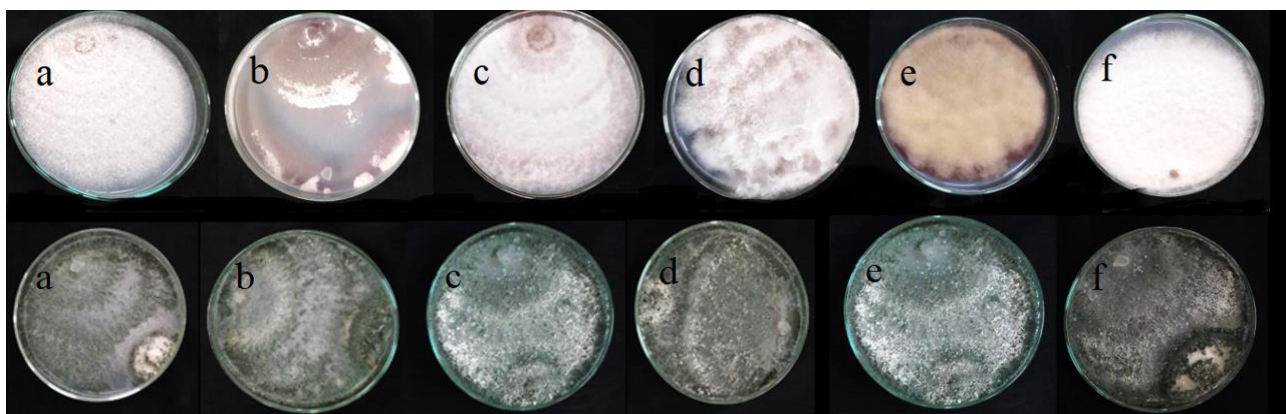
شکل ۶. برهمکنش قارچ‌های آنتاگونیست *Trichoderma harzianum* بر علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مورد مطالعه در کشت متقابل: (a) *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (b) *F. oxysporum* f. sp. *lentis* (c) *F. brasiliicum* (d) *F. graminearum* UM89 (e) *F. graminearum* UM29 (f) *F. verticillioides*

Figure 6. Interaction of *Trichoderma harzianum* against plant pathogenic fungi studied in cross-culture method: a) *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, b) *F. oxysporum* f. sp. *lentis*, c) *F. brasiliicum*, d) *F. graminearum* UM89, e) *F. graminearum* UM29 and f) *F. verticillioides*.

T. viride، *T. virens*، *T. harzianum* بیشتر از بقیه در کنترل زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hajieghrari et al. 2008). گونه‌های *Trichoderma* می‌توانند در رشد سریع گیاهان گلخانه‌ای و محصولات کشاورزی نیز کمک شایانی داشته باشند (Varma et al. 2007). در این پژوهش، دو قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* و *T. viride* برای مهار رشد میسلیمی علیه شش جدایه بیماری‌زای *Fusarium* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که قارچ آنتاگونیست *T. viride* در روش کشت متقابل، تأثیر بهتری در بازدارندگی از رشد میسلیمی جنس *Fusarium* داشته است و بیشترین اثر بازدارندگی را به میزان ۶۴/۷۸٪ روی رشد قارچ *F. brasiliicum* نشان داد.

بر اساس مشاهدات آزمایشگاهی، قارچ آنتاگونیست *T. viride* در تقابل با قارچ بیماری‌زای *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* باعث تشکیل هاله بازدارنده رشد و تولید اسپور شده و در تقابل با قارچ‌های بیماری‌زای *F. oxysporum* f. sp. *lentis* و *F. graminearum* UM29 روی هیف‌های قارچ‌های بیماری‌زا پخش شده و مانع رشد و گسترش این قارچ‌ها شده است (شکل ۷).

تاکنون گونه‌های مختلف *Trichoderma* به عنوان یکی از پرکاربردترین عوامل بیوکنترل برای مهار بیمارگرهای مختلف در میزبان‌های متعدد به کار رفته‌اند (Alizadeh et al. 2020). در بین گونه‌های *Trichoderma*، گونه‌های *T. koningii* Oudem، *T. hamatum* (Bonord.)، *T. roseum* (Pers.) Link،



شکل ۷. برهمکنش قارچ‌های آنتاگونیست *Trichoderma viride* بر علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مورد مطالعه در کشت متقابل: (a) *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (b) *F. oxysporum* f. sp. *lenticis* (c) *F. brasiliicum* (d) *F. graminearum* UM89 (e) *F. graminearum* UM29 و (f) *F. verticillioideis* (f)

Figure 7. Interaction of *Trichoderma viride* against plant pathogenic fungi studied in cross-culture method: **a)** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, **b)** *F. oxysporum* f. sp. *lenticis*, **c)** *F. brasiliicum*, **d)** *F. graminearum* UM89, **e)** *F. graminearum* UM29 and **f)** *F. verticillioideis*.

مکانیسم‌ها است (Davari & Ezazi 2016) که نتایج این تحقیق نیز این مطلب را تأیید می‌کند.

تأثیر متابولیت‌های فرآر قارچ‌های آنتاگونیست روی رشد میسلیمی قارچ‌های بیمارگر

درصد بازدارندگی از رشد میسلیمی مواد فرآر حاصل از قارچ‌های آنتاگونیست روی قارچ‌های بیماری‌زای مورد بررسی نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی رشد مربوط به تیمار گونه‌های *T. viride* و *F. graminearum* UM89 به میزان ۴۹/۷٪ بود و کمترین تأثیر بازدارندگی روی رشد قارچ *F. verticillioideis* در تیمار گونه آنتاگونیست *T. viride* دیده شد. در تیمارهای قارچ آنتاگونیست *T. harzianum*، بیشترین تأثیر بازدارندگی بر علیه رشد رویشی *F. graminearum* UM29 با میزان بازدارندگی ۴۵/۷۱٪ و کمترین تأثیر بازدارندگی روی رشد میسلیمی قارچ *F. verticillioideis* با میزان بازدارندگی ۱۳/۱٪ مشاهده شد (شکل ۸b).

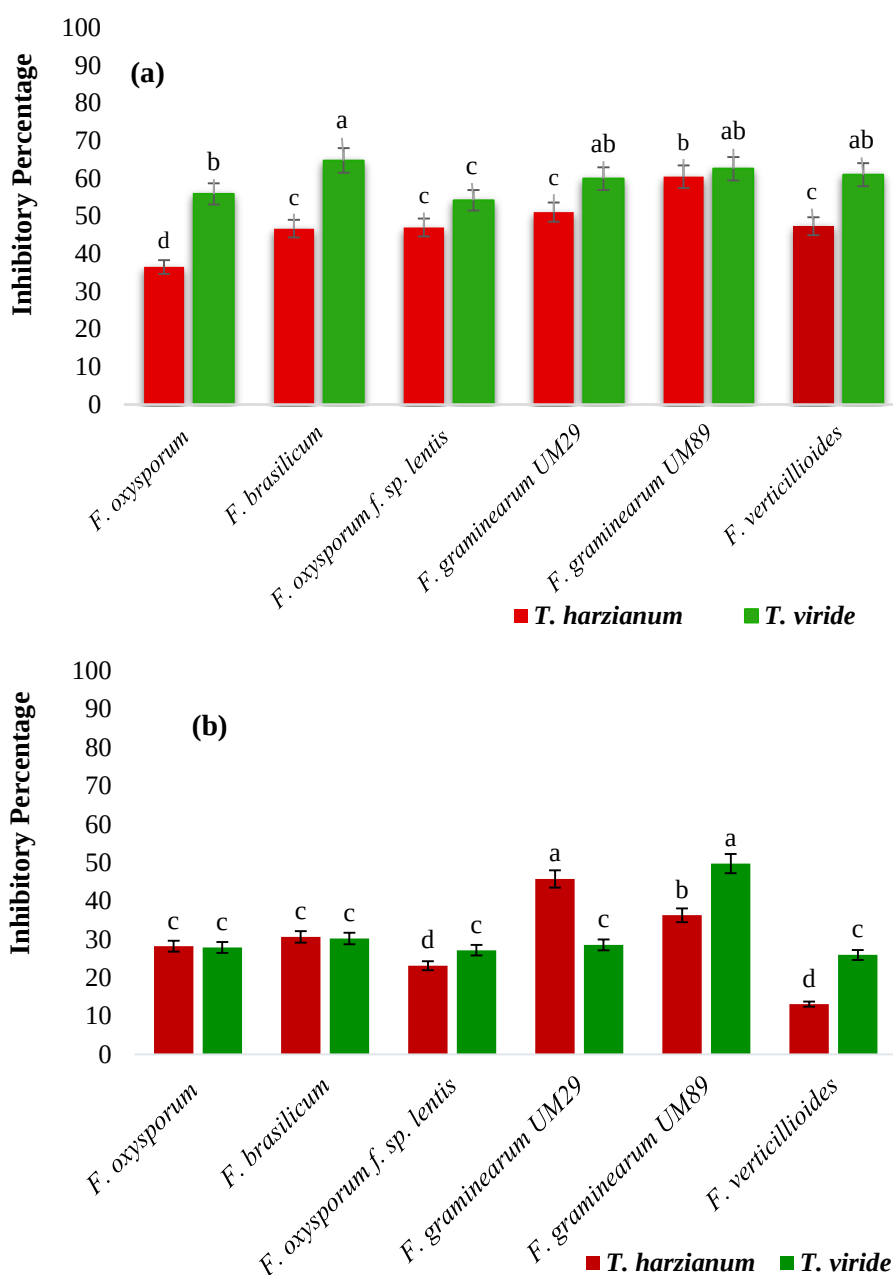
استفاده از اسانس‌های گیاهی و قارچ‌های آنتاگونیست در کنترل بیماری‌های گیاهی به عنوان روشی مؤثر و در عین حال ایمن در چند سال اخیر مطرح گردیده است. کاربرد این عوامل زیستی ضمن تأمین سلامت و ایمنی محصول، باعث کاهش ضایعات محصولات کشاورزی می‌گردد. در این پژوهش، تأثیر اسانس‌های گیاهی مختلف بر رشد برخی گونه‌های مهم جنس *Fusarium* بررسی شد تا بتوان با شناخت اثرات کنترلی آنها، غلظت‌های کارآمد این ترکیبات را معرفی کرد. علاوه بر آن با

در تحقیقات پیشین، (Khodaei et al. 2015) اثر بازدارندگی از رشد سه گونه *Trichoderma* شامل *T. longibrachiatum*، *T. harzianum* و *T. tomentosum* Bissett را روی سه گونه *F. solani*، *F. moniliforme* و *F. semitectum* در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که در روش کشت متقابل، بیشترین درصد بازدارندگی از رشد، در تیمار *F. tomentosum* / *T. harzianum* و کمترین آن در تیمار *F. solani* / *T. tomentosum* دیده می‌شود. در روش ترکیبات فرآر نیز بیشترین ممانعت از رشد در تیمار *F. solani* / *T. tomentosum* و کمترین آن در تیمار *F. semitectum* / *T. tomentosum* مشاهده شد. در پژوهش دیگری، اثر بازدارندگی از رشد پنج جدایه *Trichoderma* شامل گونه‌های *T. harzianum*، *T. virens* و *T. atroviride* روی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* جدا شده از میخک محلات با روش کشت متقابل در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که بیشترین بازدارندگی از رشد پرگنه *Fusarium* تحت اثر گونه *T. harzianum* و کمترین بازدارندگی در اثر *T. atroviride* اتفاق می‌افتد (Kermajany et al. 2017).

مکانیسم‌های بیوکنترلی گونه‌های *Trichoderma* به اشکال مختلف از جمله رقابت، میکوپارازیتسم، اثر ترشحات مایع خارج سلولی و ترکیبات فرآر ظاهر می‌شوند (Alizadeh et al. 2020). نکته مهمی که بسیاری از محققان به آن اشاره کرده‌اند، وجود اختلاف بین گونه‌ها و به خصوص جدایه‌های مختلف یک گونه از نظر مکانیسم‌های کنترلی ذکر شده و شدت و ضعف این

گلخانه و مزرعه، کاربرد اسانس‌های گیاهی و قارچ‌های آنتاگونیست را در مدیریت بیماری‌های گیاهی عملیاتی نمود.

مطالعه کنترل زیستی گونه‌های مهم *Trichoderma* روی قارچ‌های بیماری‌زای مذکور و توصیه به انجام تحقیقات تکمیلی از جمله معرفی فرمولاسیون‌های مناسب جهت به‌کارگیری آنها در



شکل ۸. مقایسه میانگین درصد بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیمارگر گیاهی توسط قارچ‌های آنتاگونیست *T. harzianum* و *T. viride* با روش (a) کشت متقابل، (b) تأثیر ترکیبات فرار

Figure 8. Comparison of the average percentage of growth inhibition of plant pathogenic fungi with two antagonist fungi *T. harzianum* and *T. viride* by methods a) cross-culture, b) effect of volatile compounds.

ارایه شده به دانشگاه محقق اردبیلی است که بدینوسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه بابت تامین هزینه و امکانات لازم قدردانی می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول

References

- Azimi S, Shahin S, Alizadeh A. 2021. Evaluation of bean plant treatment with *Trichoderma harzianum* TR6 on the biology of bean aphid *Aphis fabae*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (1): 1-7 (In Persian with English abstract).
- Alizadeh M, Vasebi Y, Safaie N, 2020. Microbial antagonists against plant pathogens in Iran: A review. *Open Agriculture* 5: 404-440.
- Amini J, Sidovich DF, 2010. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* associated with Fusarium wilt of tomato. *Journal of Plant Protection Research* 50 (2): 175.
- Batoli H, Safaei Ghomi J, 2012. Comparison of chemical composition of essential oils of three species of genus *Nepeta* L. in Kashan region. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 28 (1): 161-175 (In Persian with English abstract).
- Chang Y, Harmon PF, Treadwell DD, Carrillo D, Sarkhosh A, Brecht JK. 2022. Biocontrol potential of essential oils in organic horticulture systems: From farm to fork. *Frontiers in Nutrition* 8: 805138. doi: 10.3389/fnut.2021.805138.
- Davari M, Diepeningen A, Babai-Ahari A, Arzanlou M, Najafzadeh MJ, Lee T, de Hoog GS, 2012. Rapid identification of *Fusarium graminearum* species complex using Rolling Circle Amplification (RCA). *Journal of Microbiological Methods* 89: 63-70.
- Davari M, Ezazi R, 2016. Study on the effects of four medicinal plant essential oils and two *Trichoderma* species in biocontrol of grapefruit rot fungi. *Journal of Biological Control of Pests and Plant Diseases* 5 (1): 1-12 (In Persian with English abstract).
- Davari M, Ezazi R, 2017. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Zhumeri amajdae*, *Heracleum persicum* and *Eucalyptus* sp. against some important phytopathogenic fungi. *Journal de Mycologie Medicale* 27: 463-468.
- Dennis C, Webster J, 1971a. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. production of non-volatile antibiotics. *Transactions of British Mycological Society* 57: 25-39.
- Dennis C, Webster J, 1971b. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of British Mycological Society* 57: 41-48.
- Fildan AP, Pet ID, Stoin B, Bujanca G., Lukinich-Gruia AT, et al., 2019. *Artemisia dracunculus* essential oil chemical composition and antioxidant properties. *Revista de Chimie* 70 (1): 59-62.
- Grulova D, De Martino I, Mancini E, Salamon I, De Feo V, 2015. Seasonal variability of the main components in essential oil of *Mentha piperita* L. *Journal of Science and Food Agriculture* 95: 621-527.
- Gupta S, Dikshit AK, 2010. Bio-Pesticides; An eco-friendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides* 3: 186-188.
- Hajieghrari B, Torabi M, Mohammadi MR, Davari M, 2008. Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolates in the control of soil borne plant pathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology* 71 (8): 788-79.
- Kalagatur NK, Mudili V, Siddaiah C, Gupta VK, Kermajany Z, Jamali Zavareh A, Fadaei Tehrani A, 2017. In vitro inhibitory effects of five strains of *Trichoderma* on the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Biological control of Pests and Plant Diseases* 6 (1): 121-125 (In Persian with English abstract).
- Khodaei A, Arzanlou M, Babai-Ahari A, 2015. Inhibitory Effects of three *Trichoderma* species against three species of *Fusarium* in laboratory conditions. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 22 (4): 105-115 (In Persian with English abstract).
- Kianivafa S, Bazgir E, Darvishnia M, 2021. Biological control of wheat take-all disease using *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (3): 93-107 (In Persian with English abstract).
- Kordali S, Ala Gormez A, Yildirim A, 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (24): 9452-9458.
- Lahouji A, Mirabolfathi M, Karami Asbou RA, 2010. Effect of *Thymus* essential oils and savory and thymol and carvacrol on *Fusarium graminearum* and doxycycline. *Iranian Journal of Plant Pathology* 46 (1): 37-50 (In Persian with English abstract).
- Mahboubi M, Heidarytabar R, Mahdizadeh E, Hosseini H, 2017. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus* species and *Zataria multiflora* essential oils. *Agriculture and Natural Resources* 51: 395-401.
- Moazeni M, Davari, A, Shabanzadeh S, Akhtari J, Saeedi M, et al. 2021. In vitro antifungal activity of *Thymus vulgaris* essential oil nanoemulsion. *Journal of Herbal Medicine* 28: 100452.
- Mutlu-Ingok A, Devencioglu D, Dikmetas DN, Karbancioglu-Guler F, Capanoglu E, 2020. Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated

- Review. *Molecules* 25 (20): 4711.
- Naeini AT, Ziglari H, Shokri M, Khosravi AR, 2010. Assessment of growth inhibiting effect of some plant essential oils on different *Fusarium* isolates. *Journal de Mycologie Médicale* 20: 174–178.
- Narmani A, Arzanlou M, Babaiahari A, Masteri Farahani H, 2019. Biological control of wheat Fusarium head blight using antagonistic strains of commercial and local *Trichoderma*, isolated from wheat plant rhizosphere. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 8 (2): 1–20. (In Persian with English abstract).
- Parsa N, Viani A, Arzanlou M, 2018. Evaluation of different tomato varieties cultivated in East-Azerbaijan province for resistance to the race 1 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 7 (3): 77–89 (In Persian with English abstract).
- Rahjoo V, Zad J, Javan-Nikkhah M, Mirzadi-Gohari A, Okhovvat *et al.*, 2008. Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in Iran. *Journal of Plant Pathology* 90 (3): 463–468.
- Raveau R, Fontaine J, Lounès-Hadj Sahraoui A, 2020. Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A Review. *Foods* 9 (3): 365.
- Reimann S, Deising HB, 2000. Fungicides: risks of resistance development and search for new targets. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 33: 329–349.
- Sayyah M, Nadjafnia L, Kamalinejad M, 2004. Anticonvulsant activity and chemical composition of *Artemisia dracunculus* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology* 94: 283–287.
- Singh R, Biswas SK, Nagar D, Singh J, Singh M, Mishra YK, 2015. Sustainable integrated approach for management of Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Synder and Hansen. *Sustainable Agriculture Research* 4 (1): 138–147.
- Taylor P, Lindbeck Chen KW, Ford R, 2007. Lentil diseases. In: SS Yadav, DL McNeil, PC Stevenson. (eds.). Lentil, an ancient crop for modern times. Springer Publisher, Netherlands 291–313.
- Varma M, Brar KS, Tyagi RD, Surampalli RY, Valero JR, 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp. panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37: 1–20.
- Wegulo SN, Baenziger PS, Nopsa JH, Bockus WW, Hallen-Adams H, 2015. Management of Fusarium head blight of wheat and barley. *Crop Protection* 73: 100–107.
- Xiao Y, Liu Z, Gu H, Yang F, Zhang L, Yang L, 2021. Improved method to obtain essential oil, asarinin and sesamin from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* using microwave-assisted steam distillation followed by solvent extraction and antifungal activity of essential oil against *Fusarium* spp. *Industrial Crops and Products* 162: 113295.
- Xue A, Guo W, Chen Y, Siddiqui I, Marchand G, Liu J, Ren C, 2017. Effect of seed treatment with novel strains of *Trichoderma* spp. on establishment and yield of spring wheat. *Crop Protection* 96: 97–102.
- Yang L, van der Lee T, Yang X, Yu D, Waalwijk C, 2008. *Fusarium* populations on Chinese barley show a dramatic gradient in mycotoxin profiles. *Phytopathology* 98: 719–727.



This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)