مجلهٔ جنگل ایران، انجمن جنگلبانی ایران
سال هفدهم، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۴
ص ۴۴۵-۴۳۱
مقاله پژوهشی
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22034/ijf.2025.489338.2018
CC BY 4.0

ارزیابی تأثیر برخی قارچ‌کش‌ها و قارچ تریکودرما بر عامل بیماری پژمردگی (*Fusarium oxysporum* Schltdl.) درختان شب‌خسب در شرایط آزمایشگاهی

الناز یحیی‌دوست رازلیقی[۱]، محمدرضا کاوسی[۲*] و محمدرضا احمدی[۳]

[۱]دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکدهٔ علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
[۲]دانشیار گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکدهٔ علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
[۳]دانش‌آموختهٔ دکتری گیاهپزشکی، دانشکدهٔ تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۴)

چکیده

مقدمه: درخت شب‌خسب (*Albizia julibrissin* Durazz.) یکی از گونه‌های بومی جنگل‌های جلگه‌ای شمال ایران است. بیماری قارچی پژمردگی، بیماری شایع درختان شب‌خسب، موجب خسارت جدی به این گونهٔ باارزش شده است. قارچ عامل بیماری (*Fusarium oxysporum* Schltdl.) از طریق زخم‌های ریشه یا طوقه وارد و موجب بیماری درخت می‌شود. در این تحقیق هدف، بررسی و مقایسهٔ کنترل عامل بیماری پژمردگی فوزاریوم با استفاده از قارچ‌های تریکودرما و قارچ‌کش‌های کاربندازیم، تبوکونازول و تیوفانات‌متیل در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری از جنگل‌های استان گلستان به‌منظور جداسازی قارچ بیمارگر انجام گرفت. نمونه‌ها بعد از ضدعفونی به محیط کشت (PDA) منتقل شدند و در انکوباتور با شرایط تاریکی مطلق و دمای ۲۵±۲ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از خالص‌سازی، نمونه‌ها تا شناسایی گونه‌ها به یخچال با دمای ۴±۱ درجهٔ سانتی‌گراد و تاریکی مطلق منتقل شدند. سپس وضعیت دیوارهٔ عرضی در اسپورها، پلی‌فیالید، منوفیالید و شکل و فرم ماکروکنیدی، میکروکنیدی و کلامیدوسپور بررسی شد. آزمون اثبات بیماری‌زایی به روش مایه‌زنی قارچ‌ها با تلقیح قرص‌های میسلیومی به ساقهٔ نهال شب‌خسب صورت گرفت. در این پژوهش از سه ایزولهٔ شناسایی‌شدهٔ تریکودرما از کلکسیون قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (ایزوله‌های *T. koningii* iso2، *T. atroviridae* 6022 و *T. virens* 6011) به‌منظور بررسی اثر آنتاگونیستی بر فوزاریوم استفاده شد. درصد بازدارندگی رشد میسلیومی بیمارگر و میزان رشد قطری پرگنهٔ قارچی در تیمارها و شاهد تا ۱۲ روز پس از تیمار محاسبه شد. برای بررسی اثر مبارزهٔ شیمیایی بر بازدارندگی از رشد قارچ فوزاریوم از سه قارچ‌کش کاربندازیم، تبوکونازول و تیوفانات‌متیل هر کدام با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار و سه سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. برای آنالیز داده و تجزیه‌وتحلیل آماری از نرم‌افزار spss و مقایسهٔ میانگین‌ها به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در حداکثر سطح اطمینان استفاده شد.

یافته‌ها: در این پژوهش نمونه‌های آلودهٔ درختان شب‌خسب گونهٔ *F. oxysporum* شناسایی شد و هر سه گونهٔ تریکودرما از رشد کامل *F. oxysporum* جلوگیری کردند. بیشترین بازدارندگی متعلق به گونه‌های *T. virens* و *T. atroviridae* به‌ترتیب با ۶۸/۸۷ و ۶۸/۱۲ درصد و کمترین بازدارندگی متعلق به گونهٔ *T. koningii* با ۶۶/۷۵ درصد به دست آمد. در مبارزهٔ شیمیایی تیوفانات‌متیل در غلظت‌های ۱ و ۱۰ ppm به‌ترتیب ۱۹ و ۶۰/۵ درصد بازدارندگی و در غلظت ۱۰۰ ppm موجب توقف کامل رشد میسلیوم بیمارگر شد. همچنین قارچ‌کش کاربندازیم با غلظت ۱ ppm، ۵۲ درصد مانع رشد بیمارگر شد و در دو غلظت دیگر (۱۰ و ۱۰۰ ppm) به‌طور کامل رشد میسلیوم *F. oxysporum* را متوقف کرد. تبوکونازول نیز در هر سه غلظت ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm موجب توقف کامل رشد میسلیوم بیمارگر شد.

نتیجه‌گیری: بیماری قارچی فوزاریوم موجب تهدید جدی درختان باارزش شب‌خسب در مناطق جلگه‌ای جنگل‌های شمال کشور شده است. با توجه به خسارت بسیار زیاد به این درختان، کنترل عامل بیماری و حفظ و توسعهٔ درختان شب‌خسب باید در نظر گرفته شود. دستاورد حاضر نشان داد که قارچ‌کش‌های کاربندازیم، تبکوکونازول و تیوفانات‌متیل و قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما (*T. atroviridae*, *T. virens*, *T. koningii*) برای کاهش و کنترل کامل رشد میسلیوم قارچ عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی مؤثر بوده‌اند. نتایج نشان داد که بین ترکیبات شیمیایی و عوامل قارچی عامل بیوکنترل در مقایسه با شاهد در مبارزه با قارچ عامل بیماری فوزاریوم اختلاف زیادی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی، تریکودرما، شب‌خسب، قارچ‌کش، *Fusarium oxysporum*

*نویسنده مسئول
شماره تماس: ۰۹۱۱۳۷۳۵۸۱۱
ایمیل: kavousi@gau.ac.i

مقدمه

درخت گل‌ابریشم یا شب‌خسب (*Albizia julibrissin* Durazz.)، از خانواده بقولات Fabaceae (Mimosaceae) یکی از گونه‌های بومی جنگل‌های جلگه‌ای شمال ایران، از آستارا گیلان تا مینودشت استان گلستان دیده می‌شود (Sabeti, 1995). این‌گونه ضمن تندرشد بودن، قابلیت تحمل خشکی را نیز دارد و روی انواع مختلف خاک مستقر می‌شود (Abbasi, 1999). درختان شب‌خسب با توجه به نورپسند و گرمادوست بودن، در رویشگاه‌های جلگه‌ای و پایین‌بند (تا ارتفاع ۴۰۰ متر از سطح دریا) جنگل‌های هیرکانی پراکنش دارد (Sabeti, 1995) و بومی نواحی حاره و تحت حاره‌ای است؛ ولی به‌عنوان گونهٔ زینتی در بسیاری از کشورها به‌ویژه آمریکا کاشته شده است. قدمت حضور درختان شب‌خسب در جنگل‌های هیرکانی مربوط به دوران سوم زمین‌شناسی است و از این نظر یکی از درختان بازمانده اقلیمی دورهٔ ترشیاری در جنگل‌های شمال محسوب می‌شود و درگذشته یکی از گونه‌های درختی پیشاهنگ بوده که حضور چشمگیری در شمال کشور داشته است (Sabeti,1995)؛ اما متأسفانه امروزه به‌دلیل ابتلا به بیماری قارچی پژمردگی فوزاریوم که نوعی بیماری شایع و کشنده برای درختان شب‌خسب محسوب می‌شود (Panahian & Rahnama, 2010)، صدمات جدی به این‌گونه درختی وارد شده است. بیماری پژمردگی فوزاریومی سبب شده که حضور این‌گونه در جنگل‌های هیرکانی فقط به تعدادی از تک‌درختان و پراکنده در عرصه‌های دستخوش تخریب در جنگل‌های جلگه‌ای و پایین‌بند هیرکانی محدود شود (Asadi et al., 2012; Basseri et al., 2014). بیماری زوال درخت شب‌خسب، سبب آسیب بسیار زیاد به این گونه و حتی کاهش پایه‌های آن در جنگل‌های شمال و نیز در بقیهٔ نقاط جهان شده است. از شایع‌ترین و مهم‌ترین گونه‌های فوزاریوم، *Fusarium oxysporum*، *F. solani*، *F. incarnatum*، *F. proliferatum* و *F. verticilliodes* مرتبط با بیماری‌های درختان انبه، موز، پاپایا، آناناس و آووکادو هستند که در مناطق گرمسیری پراکنش دارند. این گونه‌ها دامنهٔ میزبانی وسیعی دارند و قسمت‌های مختلف گیاه را آلوده می‌کنند (Zakaria, 2023).

عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی از طریق زخم‌های روی ریشه یا طوقه وارد گیاه می‌شود و در آوندهای چوبی خارجی حرکت می‌کند و با از کار انداختن آوندها موجب تغییر رنگ آنها می‌شوند. هنگامی‌که اغلب آوندهای منتهی به یک شاخه توسط بیماری تخریب شد، پژمردگی در آن ظاهر می‌شود و با پیشرفت و هجوم به سیستم آوندی و مرگ درخت، شیرابه از تنه و پوست شکاف‌خوردهٔ درخت خارج می‌شود (Skarmoutsou & Skarmoutsos, 1999). فوزاریوم به‌عنوان نوعی پاتوژن، قسمت‌های بالای زمینی و زیرزمینی گیاه را به‌عنوان پاتوژن اصلی یا ثانویه آلوده می‌کند. عامل بیماری ممکن است به‌صورت ساپروفیت در بقایای گیاهی و خاک به‌طور محدود باقی بماند (Jafarpour, 1992). قارچ فوزاریوم نوعی قارچ خاکزی است و کلامیدوسپورها به قارچها اجازه می‌دهند برای مدت طولانی غیرفعال اما زنده بمانند. هنگامی‌که ریشه‌های درختان میزبان نزدیک به کلامیدوسپور رشد می‌کنند، میسلیوم به ریشه‌های درخت شب‌خسب نفوذ کرده و شروع به تولید هاگ می‌کند. هاگ‌ها همراه با شیرهٔ درخت به‌سمت بالا حرکت کرده و در بافت آوندها رسوب می‌کنند؛ این وضعیت در نهایت سبب گرفتگی سیستم آوندی می‌شود. هاگ‌ها و کلامیدوسپورها می‌توانند توسط هوا، آب، خاک، حشرات، حیوانات و انسان به مکان‌های جدید پخش شوند. این قارچ همچنین ممکن است در دانه‌های تولیدشده توسط درختان بیمار باقی بماند (kavousi, 2021). گونه‌های فوزاریوم از طریق هوا، باران و آب آبیاری پخش می‌شوند. کلامیدوسپورهای تولیدشده توسط برخی از گونه‌ها می‌توانند برای مدت طولانی در خاک و بقایای گیاهی باقی بمانند (Lin et al., 2013). گونه‌های

فوزاریوم دارای گسترهٔ وسیعی از استراتژی‌های عفونت هستند. بیشتر گونه‌ها همی‌بیوتروف هستند، زیرا در مراحل اولیهٔ عفونت، عامل بیماری‌زا برای رشد و نمو به میزبان زنده وابسته است. پاتوژن به نکروتروف تبدیل می‌شود که در نهایت میزبان را می‌کشد (García et al., 2020).

این بیماری توسط منوچهری در جنگل‌های شمال ایران تشخیص داده شده (Sabeti, 1995) و در چند سال اخیر سبب کاهش شدید پایه‌های این گونه در جنگل شده است. روش کنترل بیماری در مناطق مختلف استفاده از ارقام مقاوم درخت ابریشم و نیز پاک‌سازی و خارج کردن ریشه‌ها و بقایای آلوده از خاک است، اما چنین اقداماتی در جنگل‌های شمال صورت نگرفته است. در حال حاضر نیز بیشتر پایه‌های شب‌خسب به این بیماری مبتلا شده‌اند که در سنین کم خشک می‌شوند و از بین می‌روند. قارچ‌کش‌های بسیاری توانسته‌اند بیماری‌های قارچی را با موفقیت کنترل کنند، اما اثرهای مخرب و دوام غیرمعمول آنها در چرخهٔ زیست‌محیطی و نیز گسترش استرین‌های مقاوم به قارچ‌کش همواره محققان را بر آن داشته است که در جست‌وجوی روش‌های بیولوژیک برای مقابله با عوامل بیماری‌زای برآیند. هدف از مبارزهٔ بیولوژیک، استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست به‌منظور کم کردن یا جایگزین کردن عوامل بیماری‌زای گیاهی از طریق افزودن آنها به خاک است. بسیاری از گونه‌های جنس تریکودرما همواره به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیک مطرح‌اند و به‌طور معمول در خاک و ریزوسفر گیاهان یافت می‌شوند که ناشی از ترشحات مغذی ریشهٔ گیاهان است. گونه‌های این قارچ از گذشته مدنظر محققان بوده است؛ به‌طوری که از آن به‌عنوان افزایش‌دهندهٔ رشد گیاه یاد شده است (Ozby et al., 2004). کنترل آفات، تحریک سیستم دفاعی گیاه و حفاظت در گسترهٔ وسیعی از بیماری‌های گیاهی سبب توجه زیاد به این آنتاگونیست شده است (Woo et al., 2006; Lorito et al., 2012). برای مهار زیستی بیماری پوسیدگی زغالی سویا، کاربرد سه گونه تریکودرما (*T. harzianum*، *Trichoderma reesei*، *T. atroviride*) روی قارچ بیمارگر *M. phaseolina* در آزمایشگاه، موجب حدود ۷۵-۶۲ درصد کاهش وقوع بیماری و حدود ۸۵-۷۳ درصد کاهش تعداد میکرواسکلروت شد (Rezapour et al., 2017). این قارچ‌های تریکودرما در خاک‌های ایران به‌وفور یافت می‌شوند و در طول چرخهٔ زندگی خود نیز کنیدی‌های انبوهی تولید می‌کنند. آنها میکروفلورهای زیان‌آور ریشه، متابولیت‌های مخرب سمی تولیدشده توسط این میکروفلورها و همچنین عوامل بیماری‌زای مربوط به ریشه را کنترل می‌کنند (Bahramsari et al., 2005). در این تحقیق کنترل بیمارگر فوزاریومی با استفاده از سه ایزوله قارچ‌های تریکودرما از کلکسیون قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (*T. koningii* iso2، *T. atroviridae* 6022 و*T. virens* 6011) و تأثیر استفاده از قارچ‌کش‌ها در کنترل این بیماری بررسی شد و مقایسهٔ تأثیر آنتاگونیست‌های قارچی و قارچ‌کش‌های شیمیایی بر رشد عامل بیماری‌زای درختان شب‌خسب در شرایط کشت درون شیشه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

شیوهٔ اجرای پژوهش

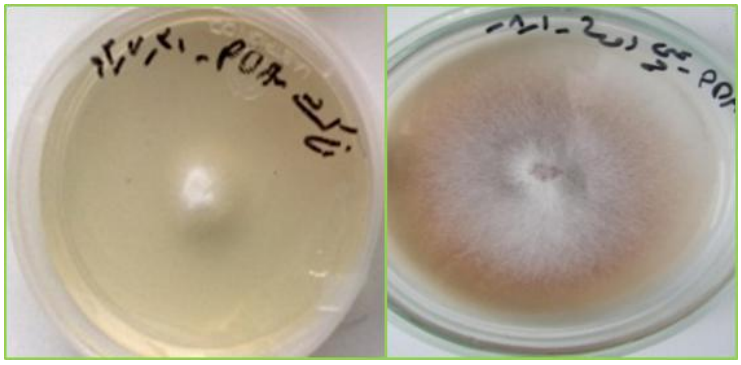
نمونه‌برداری و جداسازی عامل بیمارگر

نمونه‌برداری با بررسی میدانی از درختان شب‌خسب از جنگل‌های بندرگز، گرگان، رامیان و آزادشهر با مختصات جغرافیایی به‌ترتیب '۴۶ °۳۶ عرض شمالی و '۵۳ °۵۵ طول شرقی، '۴۹ °۳۶ عرض شمالی و '۵۵ °۵۳ طول شرقی، '۰۰ °۳۷ عرض شمالی و '۰۵ °۵۵ طول شرقی و '۰۵ °۳۷ عرض شمالی و '۱۰ °۵۵ طول شرقی در استان گلستان از درخت میانسال و مسن انجام گرفت. نمونه‌برداری از شاخه، برگ و تنهٔ درختان بیماری که دارای علائم خارجی شامل زردی، کم‌برگی، صمغ‌زدگی، سرخشکیدگی و زوال کامل و علائم داخلی

به‌صورت تغییر رنگ بافت چوب و آوند به اشکال مختلف بودند صورت گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده برای جداسازی عوامل قارچی به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های آلوده به قطعات حدود ۴ تا ۵ سانتی‌متر تقسیم شده و پس از شست‌وشو با آب مقطر سترون‌شده و انتقال به زیر هود میکروبیولوژی با استفاده از اتانول ۷۰ درصد (به‌مدت ۶۰ ثانیه) و هیپوکلریت سدیم ۱ درصد (به‌مدت ۳ دقیقه) استریل شدند. نمونه‌ها پس از سه بار شست‌وشو با آب مقطر استریل، پس از خشک شدن به قطعات کوچک‌تر (۲-۱ سانتی‌متر) تبدیل شده و روی محیط کشت PDA[1] کشت و در انکوباتور با دمای ۲۵±۲ درجه نگهداری شدند (شکل ۱). قارچ‌های رشدکرده روی محیط کشت، با استفاده از روش نوک هیف به محیط PDA جدید منتقل و خالص‌سازی شدند (Nazari et al., 2023). برای شناسایی ریخت‌شناسی جدایه‌های قارچی، شناسایی اولیه براساس ریخت‌شناسی و رنگ پرگنه‌ها و رشد روی محیط کشت PDA انجام گرفت و هر پرگنه از قارچ‌های متفاوت در محیط کشت جدید کشت داده شد. بعد از خالص‌سازی، جدایه‌های به‌دست‌آمده درون یخچال با دمای ۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد در تاریکی مطلق نگهداری شدند (شکل ۲). آزمون اثبات بیماری‌زایی به روش مایه‌زنی قارچ‌ها با تلقیح قرص‌های میسلیومی به ساقهٔ نهال شب‌خسب صورت گرفت. این آزمون در ۱۶ پتری‌دیش حاوی محیط کشت PDA با سه ایزوله تریکودرما در چهار تکرار همراه با شاهد (بدون تریکودرما) در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت.

شناسایی و مطالعات ریخت‌شناسی عامل بیمارگر

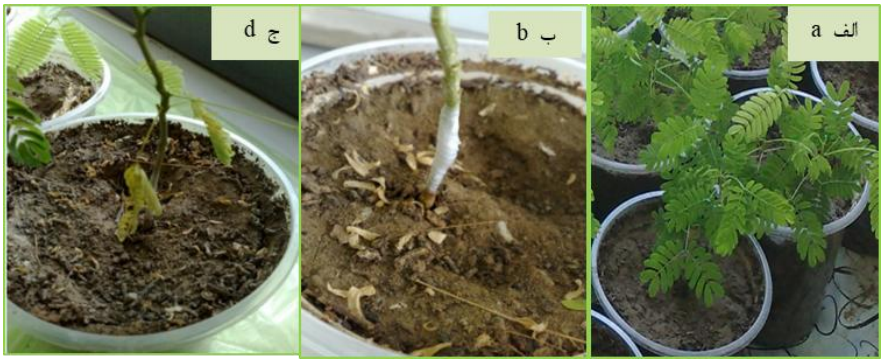
شناسایی گونه‌های مشکوک به بیماری فوزاریوم طبق کلید ارائه‌شده توسط Nelson et al. (1983) با استفاده از محیط کشت غذایی برگ میخک آگار صورت گرفت. اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی بیمارگر به روش پناهیان و رهنما (۲۰۱۰) با محاسبهٔ اندازهٔ قطر رشد پرگنه‌ها و به روش خطی بعد از سه روز اندازه‌گیری شد برای مشاهدهٔ خصوصیات ریخت‌شناسی مانند وجود یا نبود دیوارهٔ عرضی در اسپورها، سرهای دروغین، پلی‌فیالید، منوفیالید، شکل و فرم ماکروکنیدی، میکروکنیدی، کلامیدوسپور و آرایش میکروکنیدی‌ها، اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شدند. به‌منظور اثبات بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم از آزمون بیماری‌زایی به روش مایه‌زنی قارچ‌ها با تلقیح قرص‌های میسلیومی به ساقهٔ نهال شب‌خسب صورت گرفت. پس از گذشت ۴۲ روز از مایه‌زنی قارچ‌های فوزاریوم، نهال‌ها از خاک خارج شده و برگ‌ها، بافت ریشه و بقیهٔ اندام‌ها با انتقال قطعات انتخاب‌شده به محیط کشت بررسی شدند (شکل ۲).



شکل ۱- پرگنه *F. oxysporum* روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار

Figure 1. *F.oxysporum* colony on potato dextrose agar medium

1. Potato Dextrose Agar



شکل ۲- نهال شب‌خسب تلقیح‌شده با قرص میسلیومی قارچ *F. oxysporum*

الف) شاهد ب) نهال با علائم پژمردگی برگ‌ها ج) نهال بیمار با برگ‌های خزان‌کرده

Figure 2. *A. julibrissin Durazz.* seedlings inoculated with *F. oxysporum* mycelium tablets. (a)Control. (b) Seedlings with wilting symptoms. (c) Diseased seedlings with defoliated leaves

بررسی خاصیت آنتاگونیستی به روش کشت متقابل

در این پژوهش از سه ایزولهٔ شناسایی‌شده تریکودرما (ایزوله‌های *T. koningii* iso2، *T.* 6022 و *T. atroviridae* 6011) از کلکسیون قارچ‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استفاده شد. به‌منظور بررسی رقابت تغذیه‌ای و تأثیر آنتاگونیستی گونه‌های تریکودرما در برابر فوزاریوم از روش کشت متقابل و همزمان آنتاگونیست و بیمارگر برمبنای مدل Dennis &Webester (1971) با کمی تغییر استفاده شد. محیط‌های کشت در شرایط تاریکی و تحت دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت چهار روز در انکوباتور نگهداری شد. اندازه‌گیری رشد شعاعی هرکدام از جدایه‌ها تا روز دوازدهم تا زمان رسیدن ریسه‌ها به هم ادامه یافت (Pan & Bhagat, 2008). این آزمون در ۱۶ پتری‌دیش حاوی محیط کشت PDA با سه ایزوله تریکودرما در چهار تکرار همراه با شاهد (بدون تریکودرما) در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت.

اندازه‌گیری اثرهای بازدارندگی قارچ‌کش‌ها روی پاتوژن در محیط آزمایشگاهی

برای بررسی تأثیر بازدارندگی رشد پاتوژن، از سه قارچ‌کش تبکوکونازول، تیوفونات‌متیل و کاربندازیم در غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm و همچنین از سوسپانسیون سه جدایه قارچ آنتاگونیست تریکودرما با غلظت ۱×۱۰^{۵} کونیدیوم بر میلی‌لیتر استفاده شد. تأثیر بازدارندگی ترکیبات یادشده بر رشد شعاعی میسلیوم پاتوژن با استفاده از ایزوله‌های قارچ روی محیط PDA و با غلظت‌های یاد شده از هر قارچ‌کش در پتری‌دیش تعیین شد. برای اندازه‌گیری میزان بازدارندگی هر یک از جدایه‌های قارچی تریکودرما ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون کونیدیومی در محیط کشت PDA پخش شد (Mosavi mirak et al., 2019). از کشت دوازده‌روزهٔ میسلیوم قارچ، دیسک‌هایی به قطر ۴ میلی‌متر به مرکز محیط کشت PDA جامد در پلیت‌هایی به قطر ۹۰ میلی‌متر با غلظت‌های مختلفی از قارچ‌کش‌ها انتقال داده شد. پلیت‌های شاهد فقط شامل تکه‌هایی از میسلیوم قارچ بودند. پلیت‌ها به‌مدت ۶ روز در دمای ۱±۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. رشد میسلیوم قارچ روی هر پلیت اندازه‌گیری شد و رشد روی محیط کشت همراه با قارچ‌کش با رشد پاتوژن روی محیط کشت شاهد مقایسه شد. درصد ممانعت از رشد شعاعی تعیین شد تا اثر بازدارندگی رشد پاتوژن توسط قارچ‌کش‌ها و انواع تریکودرما مشخص شود. رشد شعاعی قارچ اندازه‌گیری شد و درصد بازدارندگی رشد با رابطهٔ ۱ محاسبه شد.

رابطهٔ ۱: درصد بازدارندگی رشد= [(Dc-Dt)/Dc]×100

Dc: متوسط افزایش قطر کلونی قارچ در شاهد، :

Dt درصد افزایش قطر کلونی قارچ در تیمارها

سنجش عملکرد قارچ‌کش‌های شیمیایی

برای بررسی اثر سموم بر بازدارندگی از رشد گونه‌های فوزاریوم در آزمایشگاه از سه قارچ‌کش کاربندازیم، تبوکونازول و تیوفانات متیل هر کدام با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm استفاده شد. مقدار مناسب از غلظت‌های قارچ‌کش در آگار ذوب‌شده در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد آماده شد و در تشتک پتری‌های شیشه‌ای، هر کدام به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر اضافه و به‌مدت ۱۲ روز در دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد. آزمایش در چهار تکرار با سه سطح از عامل آنتاگونیست تریکودرما و سه سطح از قارچ‌کش به همراه سه سطح از غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تجزیه‌وتحلیل آماری توسط نرم‌افزار spss صورت گرفت و به‌منظور اثبات تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی، جدول تجزیهٔ واریانس (ANOVA[1]) به روش GLM[2] رسم شد. در صورت وجود تفاوت معنی‌دار آماری، مقایسهٔ میانگین‌ها به روش حداقل تفاوت معنی‌دار LSD[3] در حداکثر سطح اطمینان انجام گرفت.

نتایج

قارچ عامل بیماری در مناطق جنگلی تحت بررسی روی درختان شب‌خسب به‌صورت زردی و پژمردگی، در ناحیهٔ طوقه به حالت قهوه‌ای و در بعضی موارد به حالت ترک‌خوردگی همراه با ترشح شیرابه در ناحیهٔ تنه، طوقه و آوندها به حالت قهوه‌ای در فصل رویش دیده شد (شکل ۳). قارچ فوزاریوم روی محیط کشت اختصاصی برگ میخک آگار اسپوردوخیوم و کنیدی تشکیل داد و پرگنه قارچ روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار ضمن رشد سریع به‌صورت میسلیومی پراکنده و تا حدی پنبه‌ای شد که ابتدا به رنگ سفید مایل به صورتی کمرنگ و در نهایت به رنگ بنفش درآمد. متوسط قطر رشد پرگنه پس از سه روز در دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد ۴/۵-۳/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. در زیر میکروسکوپ کنیدیوفورها و منوفیالید ساده یا بسیار کوتاه، ماکروکنیدی‌ها و همچنین میکروکنیدی‌ها روی فیالیدهای منفرد و کوتاه تشکیل شدند. میکروکنیدی‌ها بسیار فراوان و به‌صورت مجتمع روی این فیالیدها از نظر تعداد غالب بر ماکروکنیدی و اغلب تک‌سلولی و برخی دوسلولی بودند. میکروکنیدی‌های تخم‌مرغی کوچک و بیضوی بزرگ‌تر با ابعاد ۴/۸-۱۲×۱/۲-۲/۴ میکرومتر اندازه‌گیری شد. ماکروکنیدی‌ها روی اسپوردوخیوم‌های فراوان که داس‌شکل، کشیده و اندکی خمیده بودند شکل گرفتند. کلامیدوسپور منفرد و دوتایی به‌صورت انتهایی و میانی روی میسلیوم دیده شد (شکل ۴) (Nelson et al., 1983). نهال‌های سبزشده در آزمایشگاه، علائم بیماری را ابتدا به‌صورت پژمردگی برگ و در هفته‌های بعد به‌صورت زرد شدن نشان دادند. روی ریشه‌ها نیز علائم پوسیدگی مشاهده شد. گونهٔ قارچی به‌دست‌آمده از نمونه‌برداری منطقهٔ تحت بررسی، *F. oxysporum* نامیده شد که از قسمت طوقه و ریشهٔ درخت جدا شده و شناسایی شد.

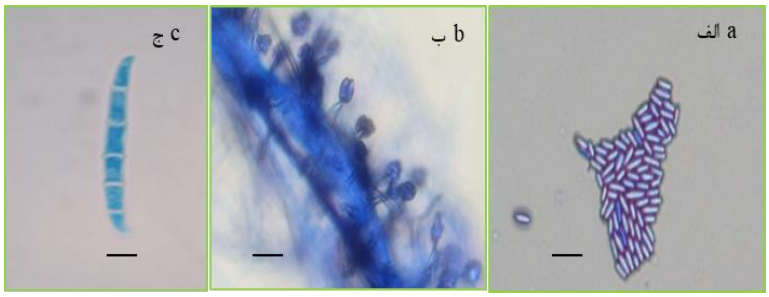
آزمون بیماری‌زایی انجام‌گرفته با استفاده از این گونه در شرایط آزمایشگاه نشان داد که بیشترین علائم بیماری شامل زردی و پژمردگی کوتیلدون و برگ‌های اولیه بود. همچنین در ناحیهٔ طوقه زخم و پوسیدگی به همراه فرورفتگی ایجاد شده بود.

بررسی قدرت بازدارندگی از رشد بیمارگر توسط گونه‌های قارچ تریکودرما

با گذشت ۱۲ روز از زمان کشت، پرگنه قارچ بیمارگر در تیمار شاهد سطح تشتک پتری را پر کرد. پس از رشد خطی میسلیوم با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد و میزان بازدارندگی گونه‌های قارچ تریکودرما محاسبه شد. تجزیهٔ واریانس نشان می‌دهد که در سطح اطمینان ۹۹ درصد تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد (جدول ۱). پس از اثبات

1. Analysis of Variance
2. generalized method of moments
3. Least Significant Difference

شکل ۳- علائم بیماری پژمردگی فوزاریوم در درختان شب‌خسب
الف) خشک شدن تاج؛ ب) پژمردگی برگ‌ها؛ ج) ترشح شیرابه
Figure 3. Symptoms of Fusarium wilt disease in *A. julibrissin Durazz.*trees.
(a) Drying of the touch. (b) Wilting of leaves. (c) Secretion of sap



شکل ۴- الف (فیالید منفرد؛ ب) تجمع میکروکنیدی‌ها؛ ج) ماکروکنیدی شش‌سلولی (Sacle bars: 10 µm)
Figure 4. (a) Single phialide, (b) Accumulation of microconidia, (c) 6-celled macroconidia
(Sacle bars: 10 µm)

معنی‌داری تفاوت بین تیمارها، مقایسهٔ میانگین‌ها به روش LSD صورت گرفت. نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که هر سه جدایه در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد توانستند از رشد *F. oxysporum* جلوگیری کنند. بر این اساس گونه‌های تریکودرما از لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفتند. بیشترین بازدارندگی از رشد بیمارگر در جدایهٔ متعلق به گونهٔ *T. virens* و *T. atroviridae* به‌ترتیب با ۶۸/۸۷ و ۶۸/۱۲ درصد و کمترین بازدارندگی توسط جدایهٔ متعلق به گونهٔ *T. koningii* با ۶۶/۷۵ درصد مشاهده شد. تفاوت تیمارهای متعلق به قارچ‌های آنتاگونیست از نظر آماری معنادار نیست؛ بنابراین می‌توان گفت توانایی آنتاگونیستی هر سه گونه تریکودرما در بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ فوزاریوم از نظر آماری تفکیک‌پذیر نیست، اگرچه هر سه نسبت به نمونهٔ شاهد، قدرت زیادی در بازدارندگی از رشد میسلیوم بیمارگر دارند (شکل ۵).

جدول ۱- تجزیهٔ واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد بازدارندگی گونه‌های تریکودرما درکشت متقابل با *F. oxysporum* در دمای ۱±۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد پس از ۱۲ روز
Table 1. Analysis of variance for the effect of experimental treatments on the percentage of inhibition of *Trichoderma* species in interculture with *F. oxysporum* at 27±1°C after 12 days

منبع تغییرات Source of variation	درجهٔ آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعاتMS	آمارهٔ F F-statistic	سطح معنی‌داری Sig.
تیمار Treatment	3	12294/82	4098/27	28/83**	0/000
اشتباه آزمایشی Experimental error	12	12/064	142/13		

** بیانگر اثر معنی‌دار تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد است.

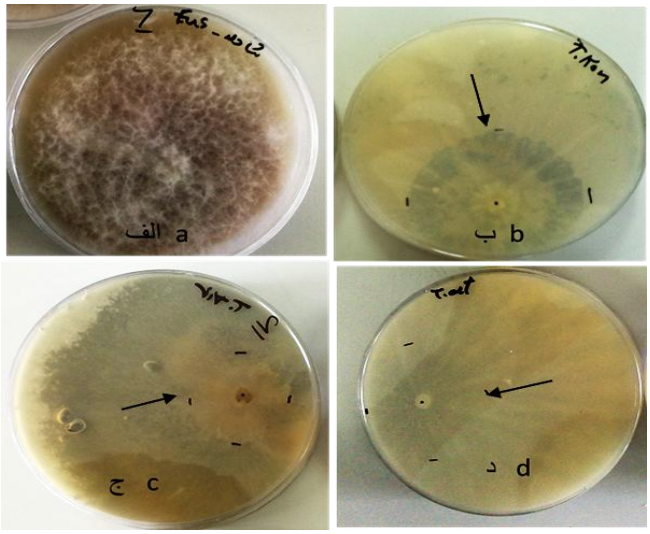
**Represents significance at the 1% probability level

جدول ۲- گروه‌بندی گونه‌های تریکودرما درکشت متقابل با *F. oxysporum* در دمای ۱±۲۷ درجه پس از ۱۲ روز
Table 2. Grouping of *Trichoderma* species in cross-culture with *F. oxysporum* at a temperature of 27 ± 1 °C after 12 days

گونه‌های آنتاگونیست *Trichoderma* species	میانگین بازدارندگی از رشد میسلیومی Mean inhibition of mycelial growth
شاهد control	0 [a]
T. virens	68/87[b]
T. atroviridae	68/12[b]
T. koningii	66/75[b]

LSD= 7.42, C.V= 11.80, P-Value=0.0000

اعداد با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهندهٔ نبود اختلاف معنی‌دار آماری
Similar letters in each column indicate no statistically significant difference.



شکل ۵ - بازدارندگی رشد میسلیوم قارچ فوزاریوم توسط گونه‌های تریکودرما
(a) control (b) *T. koningii* (c) *T. virens* (d) *T. atroviridae*
Figure 5. Inhibition of *Fusarium* mycelium growth by *Trichoderma* species,
(a) control (b) *T. koningii* (c) *T. virens* (d) *T. atroviridae*

بررسی تأثیر قارچ‌کش‌ها در رشد میسلیومی قارچ بیمارگر F. oxysporum

در این پژوهش از قارچ‌کش‌های تبوکونازول، تیوفانات متیل و کاربندازیم با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm تیمار شاهد با غلظت صفر سموم استفاده شد. پس از ۱۲ روز از رشد میسلیوم قارچ بیمارگر در محیط کشت PDA حاوی سموم مختلف در غلظت‌های مختلف در دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، داده‌های مربوط به میزان رشد خطی قرار گرفتند. براساس نتایج تجزیهٔ واریانس مشاهده شد که در سطح اطمینان ۹۹ درصد، تفاوت معنی‌داری بین قارچ‌کش‌ها، غلظت‌ها و اثر متقابل آنها وجود دارد (جدول ۳). پس از مشخص شدن تفاوت معنی‌دار بین تیمارها برای مقایسهٔ میانگین به روش LSD اقدام شد. نتایج نشان داد که قارچ‌کش تیوفانات متیل در غلظت‌های ۱ و ۱۰ ppm به‌ترتیب با ۱۹ و ۶۰/۵ درصد بازدارندگی، رشد میسلیومی بیمارگر را کنترل کرد، ولی در غلظت ۱۰۰ ppm این بازدارندگی به ۱۰۰ درصد رسید و رشد میسلیوم بیمارگر کاملاً متوقف شد. قارچ‌کش کاربندازیم با غلظت ۱ ppm توانست ۵۲ درصد مانع رشد بیمارگر شود و در دو غلظت دیگر (۱۰ و ۱۰۰ ppm) به‌طور کامل رشد میسلیوم *F. oxysporum* را متوقف کرد. قارچ‌کش تبوکونازول در هر سه غلظت ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm مانع رشد میسلیوم شد و بازدارندگی ۱۰۰ درصد به دست آمد (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیهٔ واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد بازدارندگی قارچ‌کش‌ها و غلظت‌های آنها بر رشد میسلیومی قارچ فوزاریوم عامل بیماری درختان شب‌خسب

Table 3. Analysis of variance of the effect of experimental treatments on the percentage of inhibition of fungicides and their concentrations on the mycelial growth of Fusarium, the causative agent of *A. julibrissin Durazz.*trees disease

منبع تغییرات Source of variation	درجهٔ آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعاتMS	آمارهٔ F F-statistic	سطح معنی‌داری Sig.
قارچ‌کش (F) Fungicide (F)	2	7039.68	3519.838	83.274**	0.000
غلظت (C) Concentration (C)	2	16560.89	8280.444	195.903**	0.000
F*C	4	9376.74	2344.185	55.460**	0.000
اشتباه آزمایشی Experimental error	27	1141.24	42.268		

** بیانگر اثر معنی‌دار تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد است.

**Represents significance at the 1% probability level.

جدول ۴- اثر بازدارندگی قارچ‌کش‌ها در برابر رشد میسلیومی قارچ فوزاریوم عامل بیماری درختان شب‌خسب

Table 4. The inhibitory effect of fungicides on the mycelial growth of *F. oxysporum* in Silk trees

غلظت قارچ‌کش‌های به‌کاررفته در محیط کشت ppm Fungicides concentration(ppm) used in PDA	درصد بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ بیمارگر Percentage inhibition of the mycelial growth of the pathogenic fungus		
	1	10	100
کاربندازیم Carbendazim	52c	100a	100a
تیوفانات-متیل Thiophanate-methyl	19c	60/5b	100a
تبوکونازول Tebuconazole	100a	100a	100a

مقایسهٔ قارچ‌کش‌های شیمیایی و گونه‌های تریکودرما در کنترل قارچ عامل بیماری فوزاریوم

در این پژوهش مشخص شد که تبکوکونازول در هر سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm) ، تیوفونات‌متیل با غلظت ۱۰۰ ppm و کاربندازیم در غلظتهای ۱۰ و ۱۰۰ ppm باعث بازدارندگی ۱۰۰ درصدی رشد میسلیوم قارچ بیمارگر فوزاریوم شدند. نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تیمارهای بیولوژیک تریکودرما در سطح ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری با هم دارند (جدول ۵). همچنین گونه‌های مختلف قارچ آنتاگونیست تریکودرما نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری دارند. با توجه به اثر تیمارهای شیمیایی و بیولوژیک در کنترل عامل بیماری فوزاریوم، مشخص شد که همهٔ روش‌های کنترل در مبارزه با قارچ عامل بیماری نسبت به شاهد اختلاف زیادی دارند (شکل ۶).

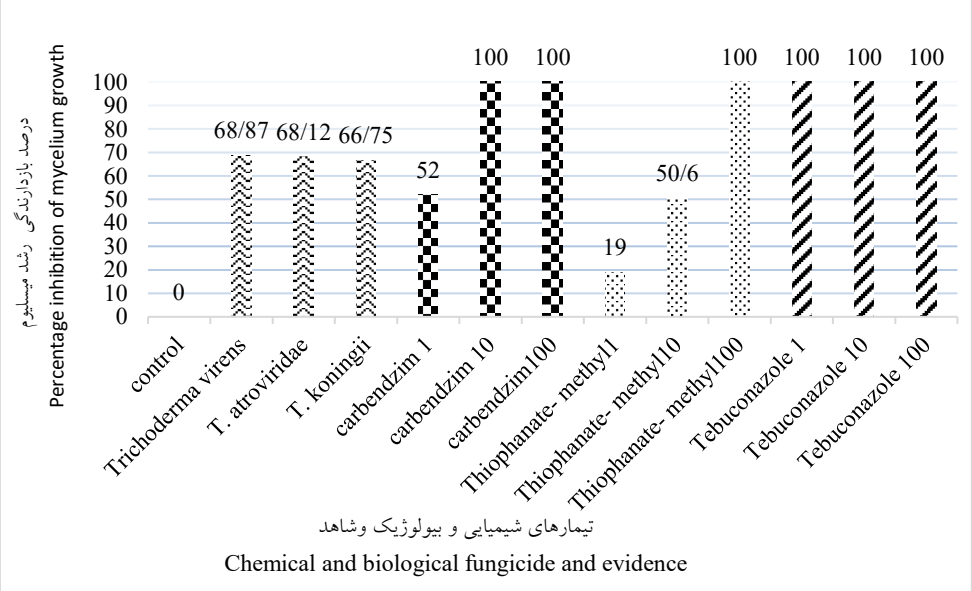
جدول ۵- تجزیهٔ واریانس اثر گونه‌های تریکودرما و قارچ‌کش‌های شیمیایی در زمینهٔ درصد بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ فوزاریوم عامل بیماری درختان شب‌خسب

Table 5. Analysis of variance of the effect of *Trichoderma* species and chemical fungicides on the percentage of mycelial growth inhibition of *Fusarium*, the causative agent of *A. julibrissin Durazz.* trees disease

منبع تغییرات Source of variation	درجهٔ آزادی df	مجموع مربعاتSS	میانگین مربعاتMS	آمارهٔ F F-statistic	سطح معنی‌داری Sig.
تیمار Treatment	12	59339.449	4944.954	67.743**	0.000
اشتباه آزمایشی Experimental error	39	2846.833	72.996		

** بیانگر اثر معنی‌دار تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد است.

**Represents significance at the 1% probability level.



شکل ۶- مقایسهٔ اثر قارچ‌کش‌های شیمیایی و گونه‌های تریکودرما با غلظت‌های مختلف در بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ بیمارگر *F. oxysporum* بعد از ۱۲ روز در محیط کشت PDA

Figure 6. The effect of chemical fungicides and *Trichoderma* fungi with different concentrations in inhibiting the growth of the pathogenic mycelial of *F. oxysporum* After 12 days in PDA

بحث

بیماری پژمردگی و زردی درختان شب‌خسب ناشی از *F. oxysporum* در بیشتر کشورها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همان‌گونه که در این پژوهش مشخص شد، گونه *F. oxysporum* از گونه‌های شایع روی درختان جنگلی است (James et al., 2006) و در بیشتر مناطق جنگلی و نهالستان‌ها روی سلامتی نهال‌ها تأثیر می‌گذارد (Stewart et al., 2006). علائم بیماری ممکن است روی درختان از نهال تا درخت بالغ نیز ظاهر شود (Anderson et al., 2002) اما این قارچ بیشتر نهال‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و نهال‌ها در نهایت به‌دلیل بیماری به‌سرعت پژمرده شده و خشک می‌شوند (James et al., 2006). این قارچ به‌سبب پارازیت بودن، برخلاف بقیهٔ قارچ‌های پوده‌رست توانایی نفوذ در بذر را ندارد، بلکه باید ابتدا پوستهٔ بذر توسط عوامل زنده یا غیرزنده شکاف بردارد تا قارچ بتواند در بذر استقرار یابد و در آینده سبب بیماری در نهال شود. قارچ *F. oxysporum* تقریباً بعد از دو ماه سبب از بین رفتن همهٔ نهال‌ها خواهد شد. این موضوع می‌تواند مسئله‌ای جدی به‌ویژه در بخش مدیریت نهالستان باشد و کار پرورش نهال را با مشکل مواجه کند. در بررسی قدرت بازدارندگی از رشد بیمارگر توسط گونه‌های قارچ ترکودرما مشخص شد که جدایه‌های مختلف این آنتاگونیست، توان بازدارندگی متفاوتی روی بیمارگر داشتند، ولی اختلاف معنی‌داری بین این سه گونه وجود نداشت. در محل تماس ریسه جدایه‌های تریکودرما، رشد میسلیوم‌های عامل بیماری‌زا بسیار کم شده و به‌صورت یک لایهٔ نازک مشاهده شد. در این محل میزان اسپور عامل بیماری‌زا در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرد. همچنین برخی از جدایه‌ها توانستند پس از گذشت ۷-۴ روز از کشت متقابل به‌طور کامل پرگنه عامل بیماری‌زا را با کنیدیفور و کنیدی بپوشانند و روی آن اسپورزایی کنند و برخی جداره‌ها سبب نازک، کوتاه، شاخه‌شاخه و کم‌پشت شدن ریسه‌های بیمارگر در مجاورت ریسه‌های آنتاگونیست شد. ازآنجا که کنترل زیستی، جایگزینی مناسب برای غلبه بر مشکل‌ها و نگرانی‌های عمومی در زمینهٔ آفت‌کش‌ها و مقاومت بیمارگرها به آفت‌کش‌های شیمیایی است، بنابراین گونه‌های تریکودرما در این بین به‌عنوان عوامل کنترل‌کننده و رایج در ریزوسفر خاک اهمیت دارند. در

این بررسی نیز گونه‌های مختلف قارچ آنتاگونیست تریکودرما در مبارزه با بیماری فوزاریومی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری دارند. در تحقیقات متعدد محققان در زمینهٔ کنترل زیستی علیه بیمارگرهای گیاهی مشاهده شد که با مایه‌زنی گونه‌های تریکودرما فرصت استقرار و تسخیر فراریشه در این قارچها افزایش می‌یابد و زمانی که عامل بیماری اضافه می‌شود، به‌علت کندرشد بودن آن و تسخیر فضای اطراف ریشهٔ گیاه توسط تریکودرما، بیمارگر تنها می‌تواند روی ریشه‌های فرعی استقرار یابد و پژمردگی آوندی و به‌عبارتی شدت بیماری نیز کاهش می‌یابد (Xin et al., 2023). تریکودرما نه‌تنها می‌تواند از بیماری‌ها جلوگیری کند، بلکه سبب رشد گیاهان، بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی، افزایش مقاومت گیاه و بهبود محیط زیست می‌شود. تریکودرما همچنین به‌منزلهٔ عامل کنترل زیستی ایمن، کم‌هزینه، مؤثر و سازگار با محیط زیست برای گونه‌های مختلف زراعی عمل می‌کند. تریکودرما به‌طور گسترده برای بیوکنترل بیماری‌های گیاهی استفاده می‌شود و اغلب در خاک، هوا، سطح گیاه و بقیهٔ محیط‌های زیست‌محیطی وجود دارد و می‌تواند به‌طور مؤثر انواع بیماری‌های گیاهی را کنترل کند (Xu et al., 2022). براساس نتایج آزمون کشت متقابل مشاهده شد که گونه‌های تریکودرما با وجود تفاوت در سازوکار هم‌ستیزی، اختلاف در رشد و کلنیزاسیون میزبان و تفاوت در قدرت اسپورزایی روی میزبان در مجموع توانستند علیه بیمارگر تحت بررسی مؤثر واقع شوند. Mustafa et al. (2009) رشد میسلیومی، کنیدی‌زایی و تولید زی‌توده را در دو گونهٔ *T.virens* و *T. atroviridae* روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار بررسی کردند و مشخص شد که گونهٔ *T. virens* در رقابت با پنج بیمارگر بذرزاد *F. moniliforme*، *F. oxysporum*، *F. solani*، *R. solani* و *A. alternate* در آزمون کشت متقابل حداکثر بازدارندگی از رشد میسلیوم را داشته است. این موضوع نشان‌دهندهٔ گسترهٔ وسیع کنترل‌کنندگی این‌گونه آنتاگونیست در برابر بیمارگرهای گیاهی است که با نتایج این بررسی همخوانی دارد. در بررسی kavousi et al. (2018) تأثیر سه گونهٔ قارچی *T.virens*، *T. atroviride* و *T. koningii* روی رشد قارچ عامل بیمار زغالی بلندمازو در شرایط کشت درون شیشه‌ای با استفاده از دو روش کشت متقابل و تأثیر مواد فرار مشخص شد که هر سه گونهٔ تریکودرما تأثیر مثبت و معنی‌داری در بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر دارند. در پژوهش Poveda et al. (2024) از قارچ‌های *T. portentosum*، *Lactarius sanguifluus*، *Suillus luteus* و *Agaricus silvicola* در شرایط آزمایشگاهی برای مبارزه با قارچ فوزاریوم (*F. oxysporum*) در درختان کاج، بلوط استفاده شد. نتایج نشان داد که این قارچ‌ها در کنترل رشد و جوانه‌زنی عامل بیماری فوزاریوم در شرایط آزمایشگاهی مؤثر بودند و رشد را تا ۳۲ درصد و جوانه‌زنی کنیدی را تا ۸۷ درصد کاهش دادند. امروزه در جهان و ایران از خاصیت بیوکنترلی گونه‌های قارچی تریکودرما استفاده می‌شود. در آینده می‌توان با پژوهش‌های بیشتر برای دستیابی و گزینش محلی جدایه‌هایی با توان محرک رشدی مناسب اقدام کرد و به‌تنهایی یا در ترکیب با بقیهٔ ترکیبات بیولوژیک در سطح وسیعی از کشور از آنها بهره گرفت. در این پژوهش مشخص شد که تبکوکونازول در هر سه غلظت (۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm) ، تیوفانات-متیل با غلظت ۱۰۰ ppm و کاربندازیم ۱۰ و ۱۰۰ ppm با کنترل ۱۰۰ درصد از رشد میسلیوم قارچ بیمارگر فوزاریوم جلوگیری کرده و موجب کنترل کامل عامل بیماری شده است. در بررسی kavousi et al. (2018) دربارهٔ کاربرد قارچ‌کش‌های اکسی‌کلراید مس، پروپیکونازول، کاربندازیم و متالاکسیل، مانکوزب برای مبارزه با قارچ عامل بیماری زغالی درختان بلندمازو در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای مشخص شد که قارچ‌کش پروپیکونازول و کاربندازیم بیشترین بازدارندگی (۱۰۰ درصد) را در بین قارچ‌کش‌ها داشتند. با توجه به بررسی صحرایی و آزمایشگاهی مشخص شد **که** بیماری قارچی فوزاریوم،

تهدیدی جدی برای درختان باارزش شب‌خسب در جنگل است. نتایج نشان داد که قارچ‌کش‌های شیمیایی و قارچ‌های آنتاگونیست برای کنترل عامل بیماری پژمردگی فوزاریوم درختان شب‌خسب بسیار مؤثر خواهند بود. با این‌حال، این تحقیق در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت و بررسی در شرایط صحرایی نیز ضرورت دارد.

نتیجه‌گیری

بیماری قارچی فوزاریوم، موجب تهدید جدی درختان باارزش شب‌خسب در جنگل‌های شمال کشور شده است. بر این اساس، کنترل بیماری پژمردگی فوزاریوم باید مدنظر قرار گیرد. براساس نتایج بررسی، قارچ‌کش‌های کاربندازیم، تبکوکونازول و تیوفانات متیل و قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما برای کنترل عامل بیماری پژمردگی فوزاریوم درختان شب‌خسب در شرایط آزمایشگاهی بسیار مؤثر خواهند بود؛ بنابراین باید تحقیقات تکمیلی در شرایط صحرایی برای مبارزه انجام گیرد تا یافته‌های تحقیق به‌منظور مدیریت بیماری پژمردگی درختان شب‌خسب استفاده شود.

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان بابت پشتیبانی مالی تحقیق برای انجام گرفتن پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد و از ادارهٔ کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان گلستان بابت هماهنگی لازم برای بازدید کانون‌های آلوده در جنگل و از دانشکدهٔ تولیدات گیاهی بابت در اختیار قرار دادن برخی از تجهیزات و امکانات و جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما قدردانی می‌شود.

References

Abbasi, H. (1999). Fast-growing trees. Publications of the Cultural Department of the Academic Jihad Central Office. Tehran, 148. (In Persian)

Anderson, R.C., Gardner, D.E., Daehler, C.C., & Meinze, F.C. (2002). Dieback of Acacia koa in Hawaii: ecological and pathological characteristics of affected stands. *Forest Ecololgy and Management, 162*(2-3), 273-286. https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00522-9.

Asadi, H., Hosseini, S.M., & Esmailzadeh, O. (2012). Persistent soil seed bank in Khybus protected area. *Journal of Forest and Wood Products*, *65*(2), 131- 145. 10.22059/JFWP.2012.30095. (In Persian)

Bahramsari, N., Zamani, M.R., & Motallebi, M. (2005). β-1, 3-glucanase production in Trichoderma isolates. *Iranian Journal of Biology, 18(3)*, 261 – 271. (In Persian)

Basseri, F., Akbarinia, M., & Esmailzadeh, O. (2014). Flora, life form and chorological study of soil seed bank in Sisangan box tree (*Buxus hyrcanus* Pojark.) Forest Reserve. *Journal of Plant Biological Sciences*, *6*(21), 9-22. (In Persian)

Dennis, C., &Webester, J. (1971). Antagonist properties of species group of *Trichoderma*, III, hyphal interaction. *Transactions mycological society japan*, *57,* 263-369. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80077-3.

García-Bastidas, F.A., Quintero-Vargas, J.C., Ayala-Vasquez, M., Schermer, T., Seidl, M.F., Santos-Paiva, M., Noguera, A.M., Aguilera-Galvez, C., Wittenberg, A., & Hofstede, R. (2020). First report of *Fusarium* Wilt Tropical Race4 in Cavendish bananas caused by *Fusarium odoratissimum* in *Colombia. Plant Disease*, *104*(3), 994. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1922-PDN.

Jafarpour, b. (1992). Pathology of trees, field and laboratory guide. Publications of Ferdowsi University of Mashhad, 377pp. (In Persian)

James, R.L., Dudley, N.S,. & Yeh, A. (2006). Investigating koa wilt in hawai'i: Examining *Acacia koa* seeds and seedpods for *Fusarium* species. *Native Plants Journal*, *7*(3), 315-323.

Jorge, P., Jorge, M., Paula, Z., Mónica, P., & Julio, J. (2024). Biological control of damping-off by *Fusarium oxysporum* and *F. verticillioides* on pine and oak seedlings using edible ectomycorrhizal fungi. *Pedobiologia1, 5*, 20-30. https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2024.150973.

Kavousi, M., Mohammadi, J., & Payamoor, V. (2021). Identification and contaminated areas under the management of Golestan province (Golestan National Park and Jahannama Protected Area) to pests and diseases, providing executive control strategies and rehabilitation programs. 163pp. (In Persian)

Kavousi, M., Yavarian, R., Mohammadzadeh, A., & Karmi, J. (2018). Biological compounds and fungicides to combat *Biscogniauxia mediterranea* casual agent of charcol disease hn vitro. *Journal of Forest Research and Development*, *3*(4), 343-360. (In Persian)

Lin, Y.H., Su, C.C., Chao, C.P., Chen, C.Y., Chang, C.J., WenHuang, J., & Chang, P.F.L. (2013). A molecular diagnosis method using real-time PCR for quantification and detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. *European Journal of Plant Pathology, 135(2),* 395–405. https://doi.org/10.1007/s10658-012-0096-0

Lorito, M., Woo, S.L., Gary, E., Harman, G.E., & Monte, E. (2012). Translational research on *Trichoderma:* From Omics to the Field. *Anneal Review Physiopathology*, *48*, 395-417. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314.

Mosavi mirak, L., Shirza, A., & Mohammadi, D. (2019). Integrative effect of some synthetic fungicides with some biological agents in control of Rhizoctonia solani on cotton seedlings. *Genetic Engineering and Biosafety Journal, 8(1)*,11-23 (In Persian).

Mustafa, A., AslamKhan, M., Inam-ul-Hag, M., AslamPerevez, M., & Umar, U.U.D. (2009). Usefulness of Different Culture Media for *In-vitro* Evaluation of *Trichoderma* spp. Against Seed-Borne Fungi Of Economic Importance. *Pakistan Journal of Phytopathology 21*(1), 83-88.

Nazari, J., Payamnoor, V., Kavosi, M.R., & Asadi, A. (2023). Increasing terpenes in bark endophytic fungi of *Betula pendula* Roth as an anticancer potential source by cellulose nanofibers and sodium nitrate. *South African Journal of Botany*,157, 592–601. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.04.032

Nelson, P.E., Toussohn, T.A., & Marsas, W.F.O. (1983). *Fusarium* species an illustrated manual for identification.The Pennsylvania State University Press, Pennsylvania, 193pp.

Ozby, N., Newman, S.E., & Brown, W.M. (2004). The Effect of the *Trichoderma harzianum* Strains on the Growth of Tomato Seedling. *Acta Horticulturae,* 635(635) https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.635.16

Pan, S., & Bhagat, S. (2008). Characterization of antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against soil born plant pathogens. *Journal of Biological Control, 22(1),* 43-49. DOI: https://doi.org/10.18311/jbc/2008/3796.

Panahian, G.H. & Rahnama, K. (2010). *Fusarium* wilts on native silk trees (*Albizia julibrissin* Durazz.) in the north of Iran. Gorgan. *International Journal of Agronomy and Plant Production, 1*(1), 1-5.

Poveda, J., Martín-García, J., Zamora-Brauweiler, P., Pastor, M., & Díez, J.(2024) Biological control of damping-off by *Fusarium oxysporum* and *F. verticillioides* on pine and oak seedlings using edible ectomycorrhizal fungi. *Pedobiologia, (105),* 150973. https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2024.150973

Rezapour, M., Hassanzadeh, A., Mirabadi, A.Z., & Forouzan, K. (2017). Evaluation of the efficacy of Trichoderma isolates in biological control of soybean charcoal rot disease under laboratory and greenhouse conditions. *Biological Control in Plant Medicine, 5*(1), 71-80. https://doi.org/10.22092/BCPP.2017.116072.

Sabeti, H. (1995). Forests, trees and shrubs of Iran. Yazd University Press, Yazd, 876pp .(In Persian)

Skarmoutsou, H., & Skarmoutsos, G. (1999). First Report of Fusarium Wilt Disease of Mimosa in Greece .*Plant Disease,* 6(83), 492–501. https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.6.492

Stewart, J.E., Kim, M., James, R.L., Dumroese, R.K., & Klopfenstein, N.B. (2006). Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium commune* isolates from a conifer. *Phytopathology, 96(10),* 1122-1133. https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1124

Woo, S.L., Scala, F., Ruocco, M., & Lorito, M. (2006). The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi and plants. *Phytopathology,* 96(2), 181-185. https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0181.

Xin, Y., Hailin, G., Kaixuan, Z., Mengyu, Z., Jingjun, R., & Jie, Ch. (2023). Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology, 14,* 1-15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551.

Xu, H., Yan, L., Zhang, M., Chang, X., Zhu, D., Wei, D., Naeem, M., Song, C,. Wu, X., Liu, T., Chen, W., & Yang, W. (2022). Changes in the density and composition of rhizosphere pathogenic *Fusarium* and beneficial *Trichoderma* contributing to reduced root rot of intercropped soybean. *Pathogens(MDPI),* 11(4), 478-494. https://doi.org/10.3390/pathogens11040478.

Zakaria L. (2023). Fusarium Species Associated with Diseases of Major Tropical Fruit Crops. *Horticulturae(MDPI)*, *9*(3), 322. https://doi.org/10.3390/horticulturae9030322

Iranian Journal of Forest
Vol. 17, No. 3, Autumn 2025
pp. 431-445
Research Article

DOI: 10.22034/ijf.2025.489338.2018
CC BY 4.0

Evaluation of the effect of selected fungicides and *Trichoderma* fungus on the causal agent of wilting disease (*Fusarium oxysporum* Schltdl.) in silk tree under laboratory conditions

E.Yahya Doost Razlighi[1], M.R. Kavousi[2*], and M.R. Ahmadi[3]

[1]MSc. of Silviculture & Forest Ecology, Dept. of Silviculture & Forest Ecology, Faculty of Forest Sciences, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
[2]Associate Prof., Dept. of Silviculture & Forest Ecology, Faculty of Forest Sciences,University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[3]Ph.D. of Plant Pathology, Dept. of Plant Protection, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: 19 November 2024; Accepted: 26 September 2025)

Abstract

Introduction: *Albizia julibrissin* Durazz. is a native species of the plain forests of northern Iran. The fungal disease Fusarium wilt, which is common in *A. julibrissin Duraz*. has caused significant damage to this valuable species. The causative fungus, *Fusarium oxysporum* Schltdl., enters through root or crown wounds and leads to disease in the tree. The aim of this study is to investigate and compare the control of Fusarium wilt using Trichoderma fungi and the fungicides carbendazim, tebuconazole, and thiophanate-methyl in laboratory conditions.

Materials and Methods: Sampling was conducted in the forests of Golestan province to isolate the pathogenic fungus. After disinfection, the samples were transferred to a culture medium (PDA) and placed in an incubator with conditions of absolute darkness and a temperature of 25±2 degrees Celsius. After purification, the samples were transferred to a refrigerator at a temperature of 1±4 degrees Celsius and absolute darkness for species identification. The structure of spores, polyphyllides, monophyllides, macroconidia, microconidia, and chlamydospores were examined. The pathogenicity test involved inoculating the fungi with mycelium tablets into the stems of silk tree seedlings. Three identified *Trichoderma* isolates from the mycological collection of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (iso2 *T. koningii* isolates, 6022 *T. atroviridae* isolates, and 6011 *T. virens* isolates) were used to study the antagonistic effect on *Fusarium*. The percentage of inhibition of pathogen mycelial growth, as well as the diameter growth of fungal colonies in treatments and control, were calculated up to 12 days after treatment. Three fungicides, carbendazim, tebuconazole, and thiophanate-methyl, were used in laboratory conditions at concentrations of 1, 10, and 100 (mg/ml) each to investigate the effect of chemical control on inhibiting *Fusarium* growth. The experiments were conducted in four replications and three levels in a completely randomized design. Data analysis and statistical analysis were performed using SPSS software, with means compared using the least significant difference (LSD) method at the maximum confidence level.

Results: *F. oxysporum* was identified from infected samples of nightshade trees, and all three *Trichoderma* species prevented the complete growth of *F. oxysporum*. The highest inhibition percentage was observed for *T. virens* and *T. atroviridae* species, with 68.87% and 68.12%, respectively, while the lowest inhibition rate was for *T. koningii* species at 66.75%. In chemical control, thiophanate methyl at concentrations of 1 and 10 (mg/ml) resulted in 19% and 60.5% inhibition, respectively, with complete growth inhibition at 100 (mg/ml). Carbendazim at a concentration of 1 (mg/ml) inhibited pathogen growth by 52%, and at concentrations of 10 and 100 (mg/ml), growth was completely stopped. Tebuconazole also completely halted pathogenic mycelium growth at all three concentrations.

Conclusion: *Fusarium* fungal disease poses a serious threat to valuable nightshade trees in the plain areas of the northern forests of the country. Given the significant damage to these trees, controlling the pathogen and preserving and developing nightshade trees should be a priority. The study demonstrated that the fungicides carbendazim, tebuconazole, and thiophanate-methyl, along with antagonist fungi Trichoderma (*T. virens, T. atroviridae, T. koningii*) were effective in reducing and completely controlling the growth of the disease-causing fungus in laboratory conditions. The results indicate a significant difference between chemical compounds and biocontrol agents in combating the *Fusarium* disease-causing fungus.

Keywords: Albizia julibrissin Durazz, Fungicide, Fusarium oxysporum, Trichoderma, Wilt disease.

[*]Corresponding author Tel: 09113735811 Email: kavousi@gau.ac.ir