مطالعهٔ اثر عصاره‌های متانولی سیر و دارچین و دود مایع حاصل از ضایعات توتون، بر مهار قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون (*Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*)

Study of effect of methanol extracts of Garlic, Cinnamon and liquid smoke from tobacco waste on Inhibition of Tobacco Fusarium wilt of pathogen fungi

سید افشین سجادی*

دریافت: ۹۸/۶/۲۹ پذیرش: ۹۸/۱۱/۰۲

چکیده

قارچ بیمارگر عامل پژمردگی فوزاریومی توتون از عوامل مهم بیماری‌زای گیاهی می‌باشد که در تمام نقاط دنیا پراکنده بوده و می‌تواند موجب خسارت محصول در کشورهای تولید کننده توتون گردد. مدیریت این عامل بیماری‌زا با استفاده از سموم شیمیایی، استفاده ارقام مقاوم، کنترل بیولوژیک و همچنین استفاده از عصاره‌های گیاهی انجام می‌شود. به دلیل هزینه بالای مبارزه شیمیایی و آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از آن، عصاره‌های گیاهی برای مدیریت این عامل بیماری ارجحیت دارند. این تحقیق با هدف بررسی اثر بازدارندگی عصاره‌های متانولی سیر و دارچین و دود مایع حاصل از ضایعات توتون بر رشد قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون در آزمایشگاه و انتخاب غلظت مناسب در مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش در سال ۱۳۹۷ انجام شد. عصاره‌گیری از گیاهان سیر و دارچین با استفاده از حلال متانول انجام شد و همچنین از دود مایع حاصل از پیرولیز ضایعات توتون استفاده شد. ضایعات توتون در کوره در شرایط بدون اکسیژن پیرولیز شدند و دود حاصل با استفاده از آب سرد، خنک شده و تبدیل به دود مایع گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمار اول عصاره گیاهی شامل سه گونه گیاهی (سیر، توتون و دارچین) و عامل دوم غلظت در شش سطح (۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام) در نظر گرفته شد. بررسی بازدارندگی عصاره‌های گیاهی با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره گیاهان سیر و دارچین و دود مایع (توتون) اثر بازدارندگی خوبی بر رشد قارچ مورد بررسی در این مطالعه داشتند. با افزایش غلظت عصاره‌های گیاهی، اثر بازدارندگی روی رشد میسیلیومی قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون افزایش یافت. حداقل غلظت بازدارندگی دود مایع حاصل از ضایعات توتون و عصاره متانولی سیر و دارچین بر قارچ عامل بیماری به ترتیب ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام بود. دود مایع ضایعات توتون در غلظت‌های بیشتر از ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام دارای اثر قارچ‌کشی و عصاره متانولی سیر و دارچین در غلظت‌های بیشتر از ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام دارای اثر قارچ‌ایستایی بودند.

واژگان کلیدی: پژمردگی فوزاریومی توتون، زیست‌سنجی، عصاره گیاهی، *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*

محقق، گروه گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: sajjadi_a@yahoo.com

مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum* L.) گیاهی از خانواده بادمجانیان و از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی در دنیا است. در ایران سطح زیر کشت آن در سال ۱۳۹۶ برابر با ۵۰۸۴ هکتار و تولید برگ خشک توتون معادل ۸۰۰۰ تن گزارش شد. مناطق کشت توتون سیگارت در استان‌های گلستان برابر با ۵۲/۶ درصد، مازندران معادل ۲۷/۷ درصد، کردستان با ۹/۶۵ درصد، گیلان با ۸/۸۵ درصد و آذربایجان غربی با ۱/۲ درصد گزارش شده است (بی‌نام، ۱۳۹۲).

قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون (*Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*)، عامل بیماری‌زای گیاهی مهمی با پراکنش جهانی است که می‌تواند موجب خسارت محصول در کشورهای تولید کننده توتون گردد. این بیماری اولین بار از ایالات متحده از مریلند از ارقام هوا خشک جداسازی و گزارش گردید (Johnson, 1921). کلامیدوسپور عامل زمستان‌گذرانی قارچ بوده و با رشد ریشه میزبان و ترشح مواد محرک از آن در اطراف ریشه (ریزوسفر)، جوانه زده و از طریق زخم‌هایی که بافت چوبی را آشکار می‌کنند، وارد ریشه می‌شود. سلول‌های پارانشیمی مجاور آوندها، مغز ساقه، کورتکس و آوند آبکش چندان مورد هجوم قارچ قرار نمی‌گیرند، اما رشد میسلیومی در آوندهای چوبی دیده می‌شود (Lucas, 1975). مشخص‌ترین نشانه‌های بیماری، زرد شدن تدریجی و خشک شدن برگ‌ها در یک طرف گیاه است. برگ‌ها در سمت آلودهٔ گیاه رشد ناموزون داشته و خمیده می‌شوند. پوسیدگی خشک ساقه و قهوه‌ای شدن دستجات آوندی از نشانه‌های بیماری است. در برخی مواقع موجب کوتولگی گیاه می‌شود (Lucas, 1975).

قارچ پس از تثبیت بیماری، با ترشح آنزیم موجب قهوه‌ای شدن بافت‌های آوندی می‌گردد. در برگ‌های آلوده، مقدار قند کاهش یافته و مقدار رزین‌ها و مواد مومی افزایش می‌یابد و تدریجاً از کیفیت برگ کاسته می‌شود. بیماری پژمردگی فوزاریومی در مناطق گرم شایع است و در دمای ۳۱-۲۸ درجه سلسیوس بیش‌ترین خسارت را وارد می‌کند. خاک‌های لومی ماسه‌ای مناسب‌ترین خاک‌ها برای توسعه بیماری می‌باشد. پژمردگی فوزاریومی اغلب با نماتد ریشه گرهی (Root Knot Nematode) همراه است و تأثیر بیماری با حضور نماتد افزایش می‌یابد. عوامل بیمارگر Fusarium، Nematode و Alternaria اثر متقابل دارند و در حضور هر سه عامل خسارت تشدید می‌شود (Sajjadi and Assemi, 2012; Lucas, 1975; Sajjadi *et al*, 2014). کنترل این عامل بیماری‌زا با استفاده از سموم شیمیایی، تناوب زراعی، ارقام مقاوم، کنترل بیولوژیک، استفاده از عصاره‌های گیاهی و غیره انجام می‌شود (Sajjadi and Assemi, 2012). در حال حاضر مبارزه با پژمردگی فوزاریومی توتون به‌صورت کنترل شیمیایی با استفاده از قارچ‌کش تیوفانات متیل صورت می‌گیرد که با توجه به خاک‌زی بودن قارچ، مدیریت آن با این روش چندان اثربخش نیست (Sajjadi and Assemi, 2012; Najafi *et al*., 2013). در سال‌های اخیر در استان گلستان این بیماری به دلایلی مانند وجود زادمایه کافی، کشت ارقام حساس و شرایط مساعد جوی به صورت یک بیماری جدی درآمده است (Sajjadi and Assemi, 2012). در تحقیقی قارچ‌های *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*، *Phytophthora nicotianae*، *Macrophomina phaseolina*، *Pythium aphanidermatum* و *P. ultimum* var. *ultimum* به ترتیب با فراوانی ۳۴/۹۲، ۳۱/۲۲، ۲۲/۷۹، ۶/۶، ۲/۲ و ۲/۲ درصد از مزارع توتون استان گلستان جداسازی و شناسایی شدند (Sajjadi and Assemi, 2012). Porter and Powell, 1967 گزارش کردند که توتون‌های آلوده به نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*) مستعد آلودگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی هستند.

یکی از روش‌های نوین در جهت مهار بیماری‌های گیاهی استفاده از مواد و ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی است. در این بین، اهمیت ترکیبات طبیعی گیاهان در مهار انواع بیماری‌های گیاهی از جمله بیماری‌های قارچی، باکتریایی، ویروسی و نماتدها بسیار بارز و برجسته است؛ زیرا از یک سو برای تعدادی از عوامل بیماری‌زای خاکزاد و بذرزاد روش مهار مؤثر و پایداری وجود ندارد (Hasanzadeh, 2005)؛ از سوی دیگر، پیدایش پدیده مقاومت به انواع سموم شمیایی، مسمومیت‌های

ناشی از مصرف آن‌ها در جانوران، آبزیان و حشرات مفید و نیز اثرات منفی باقیمانده‌های سموم، مشکلات زیادی را برای سلامت انسان و محیط زیست فراهم آورده است (Gupta and Tripata, 2011; Abdolmaleki *et al*., 2011b). از این رو بسیاری از کشورها با استفاده از فن‌آوری جدید تهیه و فرمولاسیون سموم غیر شیمیایی از جمله آفت‌کش‌ها با پایه و منشأ گیاهی مبادرت به کنترل تلفیقی بیماری‌های مهم گیاهی نموده‌اند (Amadioha, 2000). در حال حاضر چند سم تجاری در دنیا معرفی شده است. در ایران نیز یک باکتری‌کش گیاهی علیه بیماری آتشک گلابی، به نام بس به ثبت رسیده است. حجم تحقیقات انجام شده و در دست اجرای کشورها مؤید وجود یک تحول جدید در امر تأمین بهداشت و سلامت تولیدات محصولات کشاورزی است (Hasanzadeh, 2005). ماهیت ضدمیکروبی، تحریک برای مصونیت گیاه و جلوگیری از آلودگی‌های محیطی از دیگر مزایای مواد طبیعی جدید است (Aye and Matsumoto, 2010).

پیرولیز یک فرآیند ترمودینامیکی برای به‌دست آوردن حالت جامد (زغال)، مایع (روغن زیستی یا قطران پیرولیتی) و محصولات گازی در غیاب اکسیژن است. بازده محصولات پیرولیزی به عوامل مختلفی مانند دمای پیرولیز، سرعت حرارت دادن و زمان بستگی دارد. بسیاری از انواع زیست توده مانند ساقهٔ پنبه، پوستهٔ بادام زمینی، سبوس برنج، کتان، پوست پرتقال و چوب موادی بوده‌اند که تحت شرایط مختلف پیرولیز برای تولید سوخت، مواد شیمیایی و دیگر محصولات برای مثال مایع بدست آمده از پیرولیز زیست توده به‌عنوان عامل استریل کردن، طعم دهنده دود، ضدمیکروب و عامل رشد مورد استفاده قرار گرفته است. برخلاف قطران زغال سنگ، قطران پیرولیتی مشتق شده از چوب، هیدروکربن‌های آروماتیک چند هسته‌ای را شامل نمی‌شود؛ اما خیلی از ترکیبات فنولی که دارای خواص ضدقارچی همچون نگهدارنده چوب هستند را شامل می‌شود (Okutucu *et al*., 2011). با توجه به منحصر به فرد بودن ساختار پیچیده و ترکیبات شیمیایی، دود مایع ممکن است یک ماده شیمیایی بالقوه به‌عنوان آفت‌کش زیستی و نگهدارنده چوب قابل استفاده باشد. دود مایع تولید شده از انواع مختلف چوب، با توجه به خواص متفاوت آن‌ها به‌صورت ضدمیکروب، ضدقارچی و ضد موریانه مورد استفاده قرار گرفته است. راندمان دود مایع حاصل از زیست توده‌ای مانند پوسته داخلی نارگیل، نارگیل و چوب اکالیپتوس به شدت وابسته به محتویات اسیدی و فنولی است و از طریق مهار رشد Penicillium مورد تائید قرار گرفته است (Oramahi and Yoshimura, 2013). سرکه چوب به‌عنوان یک محصول جانبی از کربونیزاسیون چوب توانایی ضد میکروبی و استریل کنندگی را نشان می‌دهد و می‌تواند به افزایش رشد گیاه و بهبود سلامتی حیوانات در کشاورزی و صنعت کمک کند. گزارشات قبلی نشان داد که سرکه چوب یک محلول آبی اسیدی قرمز مایل به قهوه‌ای است و یک مخلوط پیچیده از آب، گایاکول (guaiacol)، وانیل، کاتکول، سرینگول، فوران، کربوکسی آلدئید، پیرون، اسید استیک، فورمیک اسید و دیگر اسیدهای کربوکسیلیک است. از میان این‌ها اسیدهای آلی و ترکیبات فنولی به‌عنوان ترکیباتی با اثرات بیولوژیکی اصلی مورد بررسی قرار گرفت (Cai *et al*, 2011; Souza *et al*., 2012).

عبدالملکی و همکاران (۱۳۸۷) حداقل غلظت بازدارندگی MIC (Minimum Inhibitory Concentration) عصاره‌های گیاه دارچین *Cinnamomum zeylanicum* را بر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مانند *R. solani*، *F. oxysporum*، *Phytophthora drechsleri* و *Bipolaris sorokiniana* بررسی و اثر قارچ‌ایستایی قابل توجه این گیاهان را بر رشد قارچ‌های مورد بررسی گزارش نمودند. Bahraminejad *et al*., 2011 تفاوت معنی‌داری بین عصاره‌های آبی، متانولی، اتانولی و استونی خارخسک برای جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *B. sorokiniana* نیافتند. پیراجنو و همکاران با استفاده از اسانس گیاهان برگ بو *Laurus nobilis*، نعناع فلفلی *Mentha piperita* و سداب *Ruta graveolens* توانستند قارچ‌های *R. solani* و *F. oxysporum* را تا ۱۰۰ درصد مهار نمایند (Pirajno *et al*., 2004). لی و همکاران ضمن بررسی اثر اسانس ۳۹ گونه گیاهی بر قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی و انباری گیاهی دریافتند که چهار گونه گیاهی (مرزنگوش *Origanum vulgare*، اکالیپتوس لیمویی *Eucalyptus citriodora*، آویشن *Thymus vulgaris* و زیره *Cuminum cuminum*) دارای خاصیت

ضدقارچی است؛ مرزنگوش در شرایط آزمایشگاهی توانست قارچ‌های *Botrytis cinerea*، *Colletotrichum gloesporioides*، *F. oxysporum*، *R. solani* و *P. ultimum* را تا ۵۵، ۷۸، ۷۰، ۶۸ و ۹۳ درصد و اکالیپتوس لیمویی عامل قارچ کپک خاکستری سیب را در انبار تا ۷۰ درصد مهار نماید (Lee *et al.*, 2007).

سلیمان در نیجریه گزارش کرد که عصاره برگ توتون و چریش بر قارچ‌های بیماری‌زای گوجه‌فرنگی اثر بازدارندگی داشته و عصاره توتون در مقایسه با نیم، قارچ‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم را بهتر کنترل می‌کند در حالی‌که در مورد قارچ رایزوپوس برعکس بود (Suleiman, 2011).

با توجه به این که در مورد استفاده از عصاره‌های متانولی سیر و دارچین و دود مایع حاصل از ضایعات توتون بر مهار قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون تحقیقی صورت نگرفته است، بنابراین بررسی فعالیت ضدقارچی این عصاره‌های گیاهی ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق تعیین فعالیت ضد قارچی عصاره‌های متانولی سیر و دارچین و دود مایع حاصل از ضایعات توتون بر مهار قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون و انتخاب غلظت مناسب بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

جهت اجرای این طرح پوست خشک شدهٔ درخت دارچین (*Cinnamomum zeylanicum* Breyne.) و غـده سیر (*Allium sativum*) از عطاری تهیه و پس از شستشوی سطحی، پنج دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲٪ ضدعفونی شده و سپس سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند (Alam *et al.*, 2011; Al-Rahmah *et al.*, 2011). نمونه‌ها ابتدا در شرایط آزمایشگاه و دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شدند و به‌وسیله آسیاب پودر شدند (Abdulaziz and Rashad Younes, 2010). دود مایع حاصل از ضایعات توتون (*N. tobaccum*) در آزمایشگاه بخش شیمی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه گردید.

استخراج عصاره‌های گیاهی

برای تهیه عصاره متانولی، ۵ گرم از بافت آسیاب شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده شده و سپس ۷۵ میلی‌لیتر از محلول را برداشته، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به آن اضافه شد تا حجم آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد؛ سپس هم حجم با آن هگزان اضافه شد. این مخلوط به مدت ۲ ساعت روی شیکر قرار داده شده و بخش‌های مختلف به کمک دکانتور جدا و بخش متانولی جهت تبخیر متانول و استحصال عصاره در زیر هود قرار داده شد (Bahraminejad *et al.*, 2011).

ارزیابی اثر بازدارندگی از رشد قارچ

جدایه Fo32 قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* از کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه شد. جهت ارزیابی اثر ضدقارچی عصاره‌های استحصال شده با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌های مختلف شامل ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره‌های مذکور تهیه و به محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار اضافه شد. قطر پرگنه قارچ تا زمانی که سطح محیط کشت در تشتک‌های شاهد اشغال شود، در ساعات معین اندازه‌گیری شد (Yanar *et al.*, 2011). درصد بازدارندگی از رشد قارچ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Dissanayake and Kumari 2012; Sehajpal *et al.* 2009):

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{\text{(قطر پرگنه تیمار - قطر پرگنه شاهد)}}{\text{قطر پرگنه شاهد}} \times ۱۰۰$$

به منظور بررسی ویژگی قارچ‌کشی یا قارچ ایستایی عصاره‌های گیاهی، دیسک قارچی تیمارهایی که رشد قارچی در آن‌ها مشاهده نگردید، روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار واکشت شد و رشد یا عدم رشد قارچ روی محیط کشت پس از یک هفته بررسی گردید. عدم رشد قارچ به عنوان اثر قارچ‌کشی عصاره و رشد قارچ در محیط کشت جدید به‌عنوان اثر قارچ ایستایی ثبت گردید.

حداقل غلظت بازدارندگی (Minimal Inhibitory Concentration=MIC) کامل عصاره‌های گیاهی پایین‌ترین غلظتی از عصاره بود که منجر به بازدارندگی صددرصدی از رشد میسلیومی قارچ شد.

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها به کمک نرم‌افزار MSTATC با آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور گونه گیاهی در سه سطح (سیر، دارچین و توتون) و غلظت در شش سطح (۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام) در سه تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج

اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهی بر رشد میسیلیومی پرگنه قارچ

نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های گیاهی بر قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که دود مایع حاصل از ضایعات توتون با ۷۷/۷ درصد بیش‌ترین و عصاره متانولی دارچین با ۵۳/۳ درصد کم‌ترین تأثیر بازدارندگی را روی رشد میسیلیوم قارچ فوزاریوم داشتند. عصاره متانولی سیر هم با ۶۳/۶ درصد تأثیر بازدارندگی را روی رشد میسیلیوم قارچ بیمارگر در رتبه دوم قرار داشت (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های گیاهی بر درصد مهار پژمردگی فوزاریومی توتون نسبت به شاهد

Table 1.Variance analysis of the effect of plant extracts on the inhibition percentage of tobacco Fusarium wilt disease

منبع تغییرات Source of variation (SOV)		درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Means square
Plant extracts	عصاره‌های گیاهی	2	2257**
Concentrations	غلظت	4	7867**
Plant extract× Concentration	عصاره گیاه× غلظت	8	2237**
Error	خطا	30	8
Coefficient of variation	ضریب تغییرات	4.1	

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

**significant at 1% probability level

با افزایش غلظت عصاره‌های گیاهی، اثر بازدارندگی روی رشد میسیلیومی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی بیشتر شد. غلظت‌های ۴۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب با ۱۰۰ و ۸۸/۸ درصد بیش‌ترین و غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام با ۳۰/۸ درصد کم‌ترین اثر بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ بیمارگر را داشتند (جدول ۳).

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر عصاره‌های گیاهی بر درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون

Table 2. Mean Comparison of effect of plant extracts on the inhibition percentage of tobacco Fusarium wilt disease

عصاره گیاهی Plant extracts		درصد بازدارندگی Inhibition percentage
Liquid smoke	دود مایع	77 [a]
Garlic extract	عصاره سیر	63 [b]
Cinnamon extract	عصاره دارچین	53 [c]

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

Means followed by same letter in each column are not significantly different at 1% of probability level according to DMRT.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر غلظت عصاره بر درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ پژمردگی فوزاریومی نسبت به شاهد

Table 3. Mean Comparison of effect of extract concentrations on the inhibition percentage of mycelium growth of tobacco Fusarium wilt of pathogen fungi

درصد بازدارندگی Inhibition percentage	غلظت (ppm) Concentrations (ppm)
100 [a]	4000
88 [b]	2000
62 [c]	1000
41 [d]	500
30 [e]	250

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

Means followed by same letter in each column are not significantly different at 1% of probability level according to DMRT.

مقایسه میانگین اثر متقابل عصاره گیاهی × غلظت نشان داد که دود مایع حاصل از ضایعات توتون در غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام و عصاره متانولی سیر و دارچین با غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام با ۱۰۰ درصد بیش‌ترین و عصاره متانولی دارچین با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام با ۱۸ درصد کم‌ترین بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ فوزاریوم را داشت. عصاره متانولی سیر و دود مایع با غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام با ۸۸ درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ در یک گروه در رتبه دوم قرار داشتند. عصاره متانولی دارچین با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام با ۷۷ درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. همچنین عصاره متانولی سیر و دود مایع با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام با ۵۵ درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ در یک گروه قرار داشتند. عصاره متانولی دارچین و سیر با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام و دود مایع با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام با ۴۴ درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ همگی در یک گروه قرار داشتند (جدول ۴).

نتایج بدست آمده از واکشت دیسک‌های قارچی که در تیمارهای عصاره‌های گیاهی فاقد رشد قارچی بودند، نشان داد که در غلظت‌های مورد نظر عصاره دود مایع حاصل از ضایعات توتون، رشد نکردند، که این حالت نشان دهنده فعالیت قارچ‌کشی بود؛ ولی در خصوص عصاره متانولی دارچین و سیر، با توجه به رشد قارچ، نشان‌دهنده خاصیت قارچ ایستایی بود. حداقل غلظت بازدارندگی دود مایع حاصل از ضایعات توتون و عصاره متانولی سیر و دارچین بر قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی توتون به ترتیب ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام بود (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر متقابل عصاره گیاهی × غلظت بر درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ پژمردگی فوزاریومی

Table 4. Mean Comparison of effect of plant extract ×concentrations on the inhibition percentage of mycelium growth of tobacco Fusarium wilt of pathogen fungi

تیمار Treatment		درصد بازدارندگی inhibition percentage
Liquid smoke at concentrations to 4000 ppm	عصاره دود مایع با غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام	100 [a]
Garlic extract at concentrations to 4000 ppm	عصاره سیر با غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام	100 [a]
Cinnamon extract at concentrations to 4000 ppm	عصاره دارچین با غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام	100 [a]
Liquid smoke at concentrations to 2000 ppm	عصاره دود مایع با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام	100 [a]
Garlic extract at concentrations to 2000 ppm	عصاره سیر با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام	88 [b]
Liquid smoke at concentrations to 1000 ppm	عصاره دود مایع با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام	88 [b]
Cinnamon extract at concentrations to 2000 ppm	عصاره دارچین با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام	77 [c]
Garlic extract at concentrations to 1000 ppm	عصاره سیر با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام	55 [d]
Liquid smoke at concentrations to 500 ppm	عصاره دود مایع با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام	55 [d]
Cinnamon extract at concentrations to 1000 ppm	عصاره دارچین با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام	44 [e]
Garlic extract at concentrations to 500 ppm	عصاره سیر با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام	44 [e]
Liquid smoke at concentrations to 250 ppm	عصاره دود مایع با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام	44 [e]
Garlic extract at concentrations to 250 ppm	عصاره سیر با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام	29 [f]
Cinnamon extract at concentrations to 500 ppm	عصاره دارچین با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام	25 [f]
Cinnamon extract at concentrations to 250 ppm	عصاره دارچین با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام	18 [g]

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

Means followed by same letter in each column are not significantly different at 1% of probability level according to DMRT.

بحث

حساسیت گونه‌های قارچی به عصاره گیاهان مختلف بسته به نوع عصاره‌ها و غلظت‌های گوناگون آن متفاوت است و تفاوت در فعالیت ضدقارچی عصاره‌های گیاهی به ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا با اثر تشدیدکنندگی همراه با سایر ترکیبات دارای فعالیت ضدقارچی باشد (Plotto *et al.*, 2003). در این تحقیق، اثر عصاره‌های گیاهی بر قارچ بیمارگر بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود. اثر عصاره‌های گیاهی دود مایع حاصل از ضایعات توتون با ۷۷ درصد بیش‌ترین و عصاره متانولی دارچین با ۵۳ درصد کم‌ترین تأثیر بازدارندگی را روی رشد میسیلیوم قارچ داشتند. عصاره متانولی سیر هم با ۶۳ درصد تأثیر بازدارندگی روی رشد میسیلیوم قارچ در رتبه دوم پس از دود مایع حاصل از ضایعات توتون قرار داشت. با افزایش غلظت عصاره‌های گیاهی، اثر بازدارندگی روی رشد میسیلیومی قارچ بیشتر شد. غلظت‌های ۴۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب با ۱۰۰ و ۸۸ درصد بیش‌ترین و غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام با ۳۰ درصد کم‌ترین بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ داشتند که این نتایج با تحقیقات عبدالملکی و همکاران (Abdolmaleki *et al.*, 2011a) مطابقت داشت. از آنجایی که اغلب ترکیبات گیاهی با خواص ضدقارچی، ترکیبات آلی اشباع شده یا ترکیبات آروماتیک هستند، از حلال‌های اتانولی یا متانولی برای استخراج آن‌ها استفاده می‌شود و در واقع در بسیاری از مطالعات، از کاربرد آب به منظور جداسازی ترکیبات مؤثر گیاهی اجتناب شده است. Bahraminejad *et al.*, 2011 گزارش نمودند که تفاوت معنی‌داری بین حلال‌های آب، متانول، اتانول و استون برای عصاره‌گیری گیاه دارویی خارخسک *Tribulus terrestris* برای جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *B. sorokiniana* وجود ندارد؛ اما سجادی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی نه گونه گیاهی شامل نعناع گربه‌ای، توتون، آویشن کوهی، رازیانه، زوفا، بادرنجبویه پُرپر، بادرنجبویه، پونه کوهی و

مریم‌گلی با استفاده از حلال‌های آب، استون، هگزان، اتانول و متانول بر روی قارچ بیمارگر پژمردگی فوزاریومی توتون، متانول را مناسب‌ترین حلال برای استخراج گزارش کردند.

مقایسه میانگین اثر متقابل عصاره گیاهی × غلظت نشان داد که دود مایع حاصل از ضایعات توتون در غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام و عصاره متانولی سیر و دارچین با غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام با ۱۰۰ درصد بیش‌ترین و عصاره متانولی دارچین با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام با ۱۸ درصد کم‌ترین بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ فوزاریوم را داشت.

نتایج به‌دست آمده از واکشت دیسک‌های قارچی فوزاریوم که در تیمارهای عصاره‌های گیاهی رشد قارچی نداشتند، نشان داد که در غلظت‌های مورد نظر عصاره دود مایع حاصل از ضایعات توتون رشد نکردند که این حالت نشان دهنده فعالیت قارچ‌کشی ولی در خصوص عصاره متانولی دارچین و سیر، با توجه به رشد قارچ، نشان‌دهنده خاصیت قارچ ایستایی بود که این نتایج با نتایج عبدالملکی و همکاران (۱۳۸۷) مطابقت داشت؛ همین محقـقین گزارش نمـودند که عصـاره متانـولی دارچـین روی قـارچ‌های بیمـاری‌زای گیاهی ماننـد *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum*، *Phytophthora drechsleri* و *Bipolaris sorokiniana* اثر قارچ ایستایی دارد. حداقل غلظت بازدارندگی دود مایع حاصل از ضایعات توتون و عصاره متانولی سیر و دارچین بر قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی توتون به ترتیب ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام بود که Seema and Devaki, 2012 حداقل غلظت بازدارندگی اسانس دارچین بر روی قارچ *R. solani* را ۵۰۰ پی‌پی‌ام گزارش نمودند. همچنین Hadi *et al*., 2013 با بررسی خواص ضدقارچی برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی بر روی قارچ *Penicilium digitatum* گزارش نمودند که گزنه، بابونه آلمانی، دارچین و نعناع فلفلی با غلظت‌های ۵۰، ۲۵، ۵۰۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام حداکثر بازدارندگی از رشد میسیلیومی قارچ در محیط کشت PDA را داشتند.

با توجه به نتایج ارائه شده در مقالات مشابه، اثرات کنترلی دود مایع مربوط به ترکیبات فنولی و اسیدهای آلی موجود در دود مایع می‌باشد (Baimark and Niamsa., 2009; Ma *et al*., 2011). همچنین بر اساس نتایج تحقیقات، نیکوتین توتون نیز دارای خواص ضدمیکروبی می‌باشد. همچنین اثر متقابل میزان ترکیبات فنلی، اسیدهای آلی و محتوی نیکوتین دود مایع می‌تواند اثرات بازدارندگی را افزایش دهد (Oramahi and Yoshimura, 2013; Zaidi and Gul, 2005). خاصیت ضدقارچی دود مایع در کنترل بسیاری از بیمارگرهای گیاهی به اثبات رسیده است (Baimark and Niamsa, 2009). محققین مختلف اثرات ضدقارچی دود مایع را به ترکیبات فنلی موجود در آن نسبت داده‌اند (Yodthong and Niamsa, 2009; Sarrafi et *al*., 2019). گوایکول، کریوزول، ۴ اتیل ۲ متوکسی فنل و ۶-۲ دی متوکسی فنل و اتیل استات از مهم‌ترین ترکیبات فنلی هستند که باعث خواص ضد قارچی آن می‌شوند (Ikergami *et al*., 1992). همچنین وجود اسید استیک در کنار ترکیبات فنلی در دود مایع سبب بهبود خاصیت ضدقارچی آن می‌شود (Nakayama *et al*., 2001). با توجه به تنوع ترکیبات موجود در دود مایع، نمی‌توان مکانیسم مستقلی برای اثرات ضدقارچی آن در نظر گرفت. به طور یقین چندین مکانیسم به هم پیوسته فعالیت‌های ضدقارچی آن را تعیین می‌کنند. شاید علت کارآیی چند ترکیب نسبت به یک ترکیب متأثر از پدیده فوق باشد (صابری و همکاران، ۱۳۹۲). ترکیبات استری موجود در دود مایع باعث افزایش کلروفیل و تحریک فتوسنتز می‌شود. ترکیبات استری همچنین به تشکیل قند و اسیدآمینه کمک می‌کند که نتایج آن مزه بهتر در تولید، سلامتی گیاه به صورت طبیعی و مقاومت بیشتر علیه آفات و بیماری‌ها می باشد. در پژوهشی تأثیر سرکه چوب بر کاهش رشد قارچ‌های بیمارگر فوزاریوم، پیتیوم و رایزوکتنیا به اثبات رسـیده است (Kadota and Niimi, 2002). در پژوهش‌های مشابه، سـرکه چـوب اسـتحصالی از درخت سرو ژاپنی اثرات ضدقارچـی بر قارچ‌های *F. oxysporum*، *Pythium splendens* و *Phytophthora capsici* نشان داد (Hwang *et al*., 2005). عصاره دود (سرکه چوب) یکی از ترکیبات ارگانیک بوده و برای کشـاورزی پایدار مناسـب می باشد. این مـاده باعـث افزایش عمـلکرد در سیـب‌زمینی (Vanaei *et al*., 2008)، کنترل آفات و افزایش رشد در ذرت شیـرین (Pangnakorn, 2008) و کنترل حشـرات در تولید

مینی‌تیوبر سیب‌زمینی در گلخانه می‌شود. این ماده باعث کنترل جانوران کوچک و میکروسکپی شده و باعث کنترل بیماری‌های قارچی و نماتد در گوجه‌فرنگی، توت‌فرنگی، فلفل و خیار، پوسیدگی ریشه در خیار، کاهش ریزش گل و افزایش محصول در فلفل، افزایش گل‌دهی، کاهش بیماری‌ها و بهبود رنگ در گل‌سرخ، کنترل پوسیدگی ریشه، افزایش سرعت رشد گیاهچه‌ها، میزان روغن و عملکرد در نخل روغن، افزایش عملکرد در قارچ صدفی، محافظت از پوسیدگی ریشه، جلوگیری از تخم‌ریزی بعضی حشرات در خاک شده و به‌عنوان یک قارچ‌کش در کشت قارچ خوراکی و در کشت درون شیشه‌ای گندم استفاده شده است.

سرکه چوب شامل ۱۵ عنصر پر و کم مصرف شامل کلسیم، کادمیوم، کروم، مس، آهن، پتاسیم، منگنز، آلومینیوم، سدیم، روی، آرسنیک، مولیبدن، فسفر، سرب و بروم می‌باشد. اکثر این عناصر در فعالیت‌های حیاتی گیاه و افزایش فتوسنتز نقش دارند. وجود هم زمان اسید استیک در کنار کاتیون‌های کلسیم و آهن باعث می‌شود که اسید استیک با این کاتیون‌ها تشکیل کمپلکس محلولی را بدهد که در آن پیوند یونی جایگزین پیوند کووالانسی می‌گردد. در نتیجه از رسوب آهن در خاک جلوگیری شده و از آب شویی سایر عناصر ممانعت به‌عمل می‌آید (Taiz and Zeiger, 2006).

نتایج حاصل از مطالعه عادل و همکاران بر روی چهار اسانس گیاهی زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر نشان داد که اسانس سیر دارای بیش‌ترین اثر مهارکنندگی روی قارچ فوزاریوم سولانی است (Adel *et al.*, 2015). مهم‌ترین جزء مؤثر سیر ترکیب آلی سولفورداری به نام آلیسین (Allicin) می‌باشد که خواص ضدقارچی گیاه سیر بر روی باکتری‌ها و قارچ‌ها از جمله *F. solani* را می‌توان به آن نسبت داد. خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی سیر در مطالعات دیگر نیز به اثبات رسیده است (Harris *et al*., 2001).

راناسینگ و همکاران (Ranasingh *et al*., 2002) گزارش کردند که اسانس دارچین دارای خواص قارچ‌کشی و قارچ ایستایی بر علیه قارچ‌های *F. proliferatum* و *Colletotrichum musae* است و می‌تواند به عنوان عوامل ضدقارچی برای مدیریت بیماری‌های قارچی پس از برداشت موز استفاده شود.

در تحقیقاتی بیان شد که برخی از عصاره‌های گیاهی به جهت خاصیت آب‌گریزی و ترکیباتی که در آن‌ها موجود است موجب مهارکنندگی قارچ‌ها می‌شوند. این خاصیت موجب می‌شود که بتوانند ضمن نفوذ در غشای دیواره سلولی قارچ و میتوکندری باعث اختلال در ساختار آن‌ها شده و موجب نشت یونی به خارج سلولی و در نهایت مرگ آن شوند (Burt, 2004). گروهی از محققان اعتقاد دارند که ترکیبات ضدمیکروبی روغن‌های اسانس موجود در عصاره‌های گیاهی با عبور از غشای سلولی و در تعامل با آنزیم‌ها و پروتئین‌های غشایی، موجب نشت پروتون به سمت بیرونی سلول شده که باعث تغییر در سلول و در نهایت مرگ آن‌ها می‌شود (Al-Rahmah *et al*., 2011).

تعدادی از ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی به‌عنوان فرآورده‌های ثانویه توسط گیاهان ساخته می‌شود که از جمله می‌توان به ترکیبات فنولی اشاره نمود که در مواجه گیاهان با گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود. فرایند اثر ضدقارچی گیاه به واسطه ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌تواند از طریق آسیب به DNA، میتوکندری، آسیب به دیواره سلولی و نهایتاً مرگ میکروارگانسیم باشد (Yahya-Abadi *et al*., 2011).

نتایج این تحقیق نشان از پتانسیل بالای عصاره دود مایع حاصل از ضایعات توتون و عصاره متانولی سیر و دارچین در مهار زیستی قارچ بیمارگر توتون دارد. امید است این عصاره‌ها به‌عنوان ترکیبات دوست‌دار طبیعت جایگزین سموم شیمیایی گردد تا محصول سالم‌تر به دست مصرف‌کننده برسد. پیشنهاد می‌گردد نتایج این تحقیق در سطح آزمایشات مزرعه‌ای بررسی گردد.

منابع **References**

بی‌نام. ۱۳۹۷. کارنامه کشاورزی. شرکت دخانیات ایران. ۵۶ صفحه.

سجادی، ا. و **عاصمی، ه. ۱۳۹۳.** اثر ضدقارچی عصاره‌های گیاهی بر قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون. تحقیقات بیماری‌های گیاهی ۳ (۱): ۶۲-۴۷.

صابری، م.، عسکری، ح.، سرپله، ا. و رفیعی، ف. ۱۳۹۲. بررسی اثرات تلفیقی سرکه چوب و ورمی کمپوست در کنترل قارچ *Verticillium dahlia* عامل پژمردگی ورتیسیلیومی خیار گلخانه‌ای. مجله آفات و بیماری‌های گیاهی ۸۱(۱): ۶۰-۵۱.

عبدالملکی، م.، سالاری، م.، بهرامی نژاد، ص.، پنجه که، ن. و عباسی، س. ۱۳۸۷. اثرات ضدقارچی عصاره خام گیاه دارچین روی برخی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی. فصلنامه علمی-پژوهشی بیماری‌های گیاهی ۴۴(۳): ۲۶۱-۲۵۵.

Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S. and Panjehkeh, N. 2011a. Study of antifungal effect *Mentha piperita* L. on plant pathogen fungi. Medical Plants 38: 26-34.

Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S. and Abbasi, S. 2011b. Study of antifungal effects of some of plant extracts for four plant pathogen fungi. Medical Plants 38: 148-155.

Abdulaziz A. A. and Rashad Younes, M. 2010. Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* on Pea. Journal of Plant Protection Research 50(3): 239-243.

Adel, M., Safari, R., Nematollahi, A., Ghiasi, M. and Nafian Dehkordi, I. 2015. Evaluation of antifungal activity of essential oils of *Eryngium campestre*, *Cuminum cyminum*, *Pimpinella affinis* and *Allium sativum* on *Fusarium solani* isolated from ornamental aquarium fish. Journal of Applied Ichthyological Research 2(4): 23-32

Alam, A., Tripathi, A., Vats, S., Behera, K. K. and Sharma, V. 2011. *In vitro* antifungal efficacies of aqueous extract of *Dumortiera hirsuta* (Swaegr.) Nees against sporulation and growth of postharvest phytopathogenic fungi. Archive for Bryology 103: 1-9.

Al-Rahmah, N., Mostafa, A. and Abdel-Megeed, A. 2011. Antifungal and antiaflatoxigenic activities of some plant extracts. African Journal of Microbiology Research 5(11): 1342-1348.

Amadioha, A. C. 2000. Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. Crop Protection 19(1): 287-290.

Aye, S. S. and Matsumoto, M. 2010. Effect of some plant extracts on *Rhizoctonia* spp. and *Sclerotium hydrophilum*. Journal of Medicinal Plants Research 5(16): 3751-3758

Baimark, Y. and Niamsa, N. 2009. Study on wood vinegars for use as coagulating and antifungal agents on the production of natural rubber sheets. Biomass and Bioenergy 33: 994-998.

Bahraminejad, S., Abbasi, S. and Fazlali, M. 2011. *In vitro* antifungal activity of 63 Iranian plant species against three different plant pathogenic fungi. African Journal of Biotechnology 10(72): 16193-16201.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology 94 (1): 223-253.

Cai, K., Jiang, S., Ren, C. and He, Y. 2012. Significant damage-rescuing effects of wood vinegar extract in living *Caenorhabditis elegans* under oxidative stress. Journal of the Science of Food and Agriculture 92: 29-36.

Dissanayake, M. L. M. C. and Kumari, W. K. M. T. 2012. Efficacy of various plant extracts to control *Fusarium* wilt of *Polyscias balfouriana* variety Marginata. Asian Journal Experimental Biological Science 3(1): 129-135.

Gupta, S. K. and Tripathi, S. C. 2011. Fungitoxic activity of *Solanum torvum* against *Fusarium sacchari*. Plant Protection Science 47(3): 83-91.

Hadi, M. R., ArabSorkhi, M. R., Kashefi, B. and Sobhanipur, A. 2013. Investigation antifungal activity of some medicinal plant extracts on growth and spore germination of *Penicilium digitatum* Sacc. In vitro. Middle east Journal of Scientific Research 17(12): 1701-1708.

Harris, J. C., Cottrell, S. L., Plummer, S. and Lloyd, D. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Applied Microbiology and Biotechnology, 57: 282-286.

Hasanzadeh, N. 2005. Technological implication of natural products in plant diseases management with special emphasis on fire blight. Agriculture Science 1: 53-68.

Hwang, Y., Matsushita, Y., Sugamoto, K. and Matsui, T. 2005. Antimicrobial effect of the wood vinegar from *Crytomenia japonica* sapwood on plant pathogenic microorganisms. Journal of Microbial Biotechnology 15 (5): 1106-1109.

Ikergami, F., Sekin, T. and Fuji, Y. 1992. Antidemaptophyte activity of phenolic compounds in Mokusakueki. Yakugaku Zasshi 118: 27-30.

Johnson, J. 1921. Fusarium wilt of tobacco. Journal of Agricultural Research 2 (7): 515-536.

Kadota, M. and Niimi, Y. 2004. Effects of charcoal with pyroligneous acid and barnyard manure on bedding plants. Scientia Horticulturae 101(3): 327-332.

Lee, S. O., Choi, G. J., Jang, K. S., Lim, H. K., Cho, K. Y. and Kim, J. C. 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. Plant Pathology Journal 23(2): 97-102.

Lucas, G. B. 1975. Disease of Tobacco, 3rd edition, Biological consulting Associates, Raleight, North Carolina. 621pp.

Ma, X., Wei, Q., Zhang, S., Shi, L. and Zhao, Z. 2011. Isolation and bioactivities of organic acids and phenols from walnut shell pyroligneous acid. Journal of Analytical and Applied Prolysis 91: 338-343.

Nakayama, F. S., Vinyard, S. H., Chow, P., Bajwa, D. S., Youngquist, J. A., Muehl, J. H. and Krzysik, A. M. 2001. Guayule as a wood preservative. Industrial Crop and Products 14: 105-111.

Najafi, M., Salavati, M., Sajjadi, A. and Afshari Azad, H. 2013. Efficacy of some fungicides against tobacco damping off caused by soilborne pathogens. 21th Iranian Plant Protection Congress. p.149

Okutucu, C., Duman, G., Ucar, S., Yasa, I. and Yanik, J. 2011. Production of fungicidal oil and activated carbon from pistachio shell. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 91: 140-146.

Oramahi, H. A. and Yoshimura, T. 2013. Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from *Vitex pubescens* Vahl. Journal of Wood Science 59: 344-350.

Pangnakorn, U. 2008. Utilization of wood vinegar by product from Iwate kiln for organic agricultural system. Technology and Innovation for Sustainable Development Conf. (TISD2008), Faculty of Engineering, Khon Kaen Univ., Thailand, 28-29 January 2008. Pp. 17-19.

Pirajno, G., Scarito, G. and Salamone, A. 2004. Fungistatic activity of essential oils of *Laurus nobilis*, *Mentha X piperita*, and *Ruta graveolens* against *Rhizoctonia solani* Kunn and *Fusarium oxysporum* (L) De Bary. Journal of Plant Pathology 84(4): 329-337.

Porter, D. M. and Powell, N. T. 1967. Influence of certain Meloidogyne species on Fusarium wilt development in flue-cured tobacco. Phytopathology 57: 285-382

Plotto, A., Roberts, D. and Roberts, R. G. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). Acta Horticulturae 628: 737-745.

Ranasinghe, L., Jayawardena, B. and Abeywickrama, K. 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merret L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Letters in Applied Microbiology 35: 208-21.

Sajjadi, A. and Assemi, H. 2012. Identification of pathogenic soilborne fungi of tobacco in Golestan province fields. Applied Plant Protection 1(3): 233-248.

Sajjadi, A., Assemi, H., Najafi, M. R. and Moradi, G. 2014. Study of effect some of plant extracts on tobacco soilborne pathogen fungi. Annual Report Tirtash Research and Education Center. Pp. 149-170.

Sarrafi, Y., Moradi Robati, Gh. R. and Fatemi, M. H. 2019. Antifungal effects of liquid smoke from pyrolysis of tobacco waste on plant pathogenic fungi. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 35(1): 109-120.

Seema, M. and Devaki, N. S. 2012. In vitro evaluation of biological control agents against *Rhizoctonia solani*. Journal of Agricultural Technology 8(1): 233-240

Sehajpal, A., Arora, S. and Kaur, P. 2009. Evaluation of plant extracts against *Rhizoctonia solani* causing sheath blight of rice. The Journal of Plant Protection Sciences 1(1): 25-30.

Souza, J. B. G., Poppi, N. R. and Raposo, Jr. J. L. 2012. Characterization of pyroligneous acid used in agriculture by gas chromatography mass spectrometry. Journal of the Brazilian Chemical Society 23(4): 610-617.

Suleiman, M. N. 2011. Antifungal properties of leaf extract of neem and tobacco on three fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Advances in Applied Science Research 2(4): 217-220.

Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. 4th. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachusetts, 676 pp.

Vanaei, H., Kahrizi, D., Chaichi, M., Shabani, G. and Zarafshani, K. 2008. Effect of genotype, substrate combination and pot size on mini-tuber yield in Potato (*Solanum tuberosum* L.). American Eurasian Journal of Agricultural Environments Sciences 3(6): 818-821.

Yanar, Y., Gokce, A., Kadioglu, I., Cam, H. and Whalon, M. 2011. In vitro antifungal evaluation of various plant extracts against early blight disease (*Alternaria solani*) of potato. African Journal of Biotechnology 10(42): 8291-8295

Yahya-abadi, S., Zeabanejad, E. and Doudi, M. 2011. Effect of plant extracts on growth of *Aspergillus* fungi. Journal of Herbal Drugs 2 (1): 69-81.

Yodthong, B. and Niamsa, N. 2009. Study on wood vinegars for use as coagulating and antifungal agents on production of natural rubber sheets. Biomass and Bioenergy 33: 994-998.

Zaidi, M. I. and Gul, A. 2005. Antifungal activity of nicotine and its cobalt complex. Journal of Science and Technology 29(2): 27-30.

Study of effect of methanol extracts of Garlic, Cinnamon and liquid smoke from tobacco waste on Inhibition of Tobacco Fusarium wilt of pathogen fungi

S. A. Sajjadi*

Received: 20 Sep., 2019 Accepted: 22 Jan., 2020

ABSTRACT

Tobacco Fusarium wilts of pathogen fungi are important phytopathogens distributed worldwide and can cause yield losses in tobacco growing countries. The management of fungal soilborne pathogens are accomplished through the use of pesticides, resistant varieties, biological control, and use of plant extracts is done. The use of plant extracts for management of this disease is preferable because pesticides are expensive and may pollute the environment. This design investigated the inhibitory effects of some medicinal plant extracts on growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae* the cause of tobacco collar rot and selection of a suitable concentration is performed in the laboratory in Tirtash Research and Education Center in 2018. The plants (Garlic and Cinnamon) were extracted with methanol and liquid smoke used in this study was obtained from the pyrolysis of tobacco waste. Tobacco waste was pyrolyzed in furnace in the absence of oxygen and smoke was converted to liquid smoke with cold water. This study were carried out in factorial with three factors including: crude extracts (Garlic, Cinnamon and Tobacco waste) and 6 concentration (0, 250, 500, 1000, 2000 and 4000 ppm) based on Completely Randomized Design with 3 replications. The minimum inhibitory concentration of each extracts was determined by agar diffusion method. Results indicated that crude extracts of Garlic, Cinnamon and Tobacco waste (liquid smoke) have remarkable antifungal activity. With increasing concentrations of plant extracts, inhibitory effect on mycelium growth of fungal *F. o* f. sp. *nicotianae* increased. The minimum inhibitory concentration of liquid smoke of tobacco waste and methanol extracts of Garlic and Cinnamon on tobacco Fusarium wilt of against fungi were equal to 2000, 4000 and 4000 ppm, respectively. The liquid smoke of tobacco waste at concentrations greater than 2000 ppm has fungicide and methanol extracts of Garlic and Cinnamon at concentrations greater than 4000 ppm has fungistate.

Key words: Fusarium wilt, bioassay, Plant extracts, *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae*

Researcher, Department of Plant Pathology, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.

***Corresponding author**: sajjadi_a@yahoo.com