

اثر مهاری پنج عصاره گیاهی بر عامل بیماری سرخشکیدگی درخت توت (*Sclerotinia sclerotiorum*) در شرایط آزمایشگاهی

The inhibitory effect of five plant extracts on the pathogen of mulberry dieback disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) in laboratory conditions

هادی رهاننده^{۱*} و عزت اله صداقت^۲

دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۵

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۸

چکیده

قارچ عامل سرخشکیدگی *Sclerotinia sclerotiorum* می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۳۲ میلادی از بلغارستان و در ایران در سال ۱۳۶۴ برای اولین بار از توتستان‌های دیسام سیاهکل و پسیخان فومن گزارش گردید. بیماری سرخشکیدگی درخت توت با عامل *S. sclerotiorum*، از بیماری‌های مهم درخت توت در ایران و جهان می‌باشد. هدف از این پژوهش، بررسی آزمایشگاهی تأثیر پنج عصاره گیاهی بر کنترل قارچ عامل بیماری بود. تأثیر عصاره پنج گیاه سیر، آویشن، نعناع فلفلی، چای، و چریش در سه حلال آبی، اتانولی، متانولی با روش اختلاط در محیط کشت طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۷ مورد مطالعه قرار گرفت. عصاره‌ها در سه غلظت ۱۰ ppm، ۱۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm به صورت تلقیح در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفتند. در عصاره آبی بیشترین مهارکنندگی را عصاره سیر (بیش از ۸۰٪) روی قارچ عامل بیماری نشان داد. در گروه اتانولی، چای و نعناع فلفلی به ترتیب با ۵۴/۱۶٪ و ۶۶/۶۶٪ بیشترین بازدارندگی را نشان دادند. در عصاره‌های متانولی و اتانولی چای و چریش به ترتیب با ۴۸/۹۱٪ و ۶۱/۵٪ و ۵۶/۳۲٪ و ۵۱/۵٪ بیشترین مهارکنندگی را نشان دادند. با کاهش میزان غلظت عصاره‌های حاصل از گیاهان در حلال‌های مختلف، قدرت بازدارندگی از رشد رویشی قارچ در سطح ظرف پتری کاهش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان مهارکنندگی قارچ بیماری‌زای *S. sclerotiorum* به واسطه عصاره‌های گیاهی به عوامل مختلف همانند حلال، غلظت و نوع قارچ بستگی دارد.

واژگان کلیدی: سیر، توت، چای، نعناع فلفلی، چریش، *Sclerotinia sclerotiorum*

مقدمه

سطح زیرکشت درختان توت در استان گیلان، طی سال‌های اخیر دچار کاهش چشم‌گیری شده است و عوامل گوناگونی در این کاهش قابل تأمل، دخالت داشته‌اند. علاوه بر تغییر کاربری توتستان‌ها، بسیاری از عوامل بیماری‌زا، تحت شرایط گوناگون، هر ساله سبب کاهش میزان برگ توت مورد نیاز در پرورش کرم ابریشم می‌گردند (حسینی‌مقدم، ۱۳۸۴). سرخشکیدگی درخت توت یکی از مهمترین آنهاست که خصوصاً در صنعت نغان‌داری، اهمیت ویژه اقتصادی دارد، بیماری خشکیدگی جوانه و سرخشکیدگی درخت توت است (حسینی‌مقدم، ۱۳۸۴). عامل سرخشکیدگی درختان توت، قارچ *S. sclerotiorum* می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۳۲ میلادی توسط کریستوف از بلغارستان گزارش شد و در ایران نیز حسینی‌مقدم و ایزدیار در سال ۱۳۶۴ برای اولین بار از توتستان‌های دیسام سیاهکل و پسیخان فومن گزارش نمودند. این بیماری، یکی از عوامل مؤثر در کاهش برگ توت در ارقام ژاپنی *Echinose* و *Shin- echinose* می‌باشد. حتی در سال‌هایی که شرایط جوی مساعد بوده است، روی ارقام محلی خسارت آن قابل توجه گزارش گردید.

۱- استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، رشت، ایران

۲- استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک، اراک، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: Rahanandeh20@yahoo.com

قارچ‌کش‌ها به ترکیباتی اطلاق می‌گردد که سبب مرگ یا از بین رفتن پرگنه (colony) قارچ می‌شوند. مواد fungistatic ترکیباتی شبه قارچ‌کش می‌باشند که بدون از بین بردن قارچ سبب توقف رشد و یا مانع از بیماری‌زایی آن می‌شوند. در برخی از موارد این ترکیبات سبب افزایش توان دفاعی گیاه در مقابل قارچ بیمارگر نیز شده‌اند. اما در صورت استفاده ناآگاهانه و نادرست، می‌توانند مشکلات جدی برای محیط زیست و مصرف‌کننده محصولات سم‌پاشی شده ایجاد نمایند (رهاننده و همکاران، ۱۳۸۵).

یکی از گیاهانی که اثر وسیع میکروبی‌کشی دارد و به دلیل این خواص مصرف فراوانی دارد، گیاه سیر *Allium sativum* است (Martinez et al., 2007). وجود ترکیبات سولفور و سایر ترکیبات فنولیکی در سیر موجب خواص ضدقارچی و باکتریایی آن می‌شود (Belew et al., 2009). عصاره آبی و ترکیبات فنلی آویشن تأثیر بسیار مناسبی در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Aspergillus flavus*، *Candida albicans* و *Fusarium solani* در سطح ظرف پتری داشته است. تأثیر عصاره نعناع فلفلی روی چهار گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی شامل *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum*، *Phytophthora drechsleri* و *Bipolaris sorokiniana* مورد بررسی قرار گرفت. عصاره آبی روی تمامی قارچ‌ها به جز *R. solani* تأثیر بازدارندگی مناسبی نشان داد (عبدالملکی و همکاران، ۱۳۸۹).

مطالعه هیراساوا و تاکادا روی اثر چای سبز، نشانگر تأثیرات ضدقارچی آن بر *Candida albicans* بود. برگ سبز چای حاوی ترکیبات پلی‌فنلی، نظیر Theaflavin و Theorubigin با اثرات ضد میکروبی است (Hirasawa and Takada, 2004). آنزیم پلی‌فنل اکسیداز موجود در برگ سبز چای که دارای نوعی پروتئین حاوی مس است، در اثر مالش و فشار شدید آزاد می‌شود. پلی‌فنل‌ها بیشتر از نوع کاتچین می‌باشند و حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد وزن خشک برگ چای را تشکیل می‌دهند. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در کلون‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. این مقدار برای کلون‌ها بین ۱۴ تا ۴۶ واحد متغیر بوده است (Nataro, 2006).

مواد و روش‌ها

تهیه و تکثیر و نگهداری قارچ عامل بیماری‌زا

ابتدا قارچ عامل بیماری از آزمایشگاه گیاه‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تهیه شد. قارچ در ظرف پتری حاوی محیط کشت PDA قرار داده شد و پس از رشد شعاعی برای نگهداری طولانی مدت به لوله آزمایش حاوی PDA انتقال داده شد. سپس در لوله‌های آزمایش تری‌گلیسرین سترون اضافه شد تا به مدت طولانی در یخچال نگهداری شود.

عصاره‌گیری سیر با حلال آبی

برای عصاره‌گیری حبه سیر، مقدار ۲۵۰ گرم سیر شسته شده و پوست کنده شده را خرد کرده و داخل مخلوط‌کن با ۷۵۰ میلی‌لیتر آب به مدت ۳ دقیقه مخلوط شد؛ سپس عصاره را از کاغذ صافی واتمن عبور داده و داخل میکروتیوپ ریخته و در دمای ۴ درجه سلسیوس در ۶۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس عصاره به دست آمده از صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد (Marchese et al., 2016).

عصاره‌گیری چریش، چای، نعناع فلفلی با استفاده از حلال آبی

برگ تر گیاهان مورد نظر در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ روز داخل آون قرار داده شد؛ سپس ۴۰ گرم از برگ خشک پودر شده و با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و به مدت ۱۵ دقیقه روی دستگاه تقطیر قرار داده شد. سپس مخلوط به دست آمده از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و عصاره حاصل از صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده و در شیشه سترون ریخته شد (Marchese et al., 2016).

عصاره گیری آویشن با استفاده از حلال آبی

گل آویشن در دمای ۷۰ سلسیوس درجه سلسیوس به مدت سه روز داخل آون قرار داده شد. سپس ۴۰ گرم از گل خشک شده پودر گردید و با ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه روی دستگاه تقطیر قرار گرفت. سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و عصاره به دست آمده، از صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده و در شیشه سترون ریخته شد (Porter, 1999).

نحوه عصاره گیری اتانول و متانولی چریش، چای، نعناع فلفلی، آویشن و سیر

ابتدا ۱۰ گرم از برگ خشک چریش و چای و نعناع فلفلی و در مورد سیر و آویشن به ترتیب ۱۰ گرم پودر سیر و ۱۰ گرم از گل خشک در ۱۰۰ میلی لیتر حلال خیس گردید. سپس بعد از ۲۴ ساعت خیساندن، روی شیکر در دمای اتاق، مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد و بعد از صاف نمودن عصاره، در دستگاه تقطیر قرار گرفت و به منظور تغلیظ عصاره، دما تا ۵۰ درجه سلسیوس افزایش داده شد. سپس عصاره به کمک صافی ۰/۴۵ میکرون سترون شد (Chou et al., 1999)

تهیه غلظت‌ها عصاره

غلظت‌ها به صورت ۱۰ ppm، ۱۰^{-۱} ppm و ۱۰^{-۲} ppm تهیه شد؛ برای تهیه عصاره با این غلظت‌ها، میزان ۱۸ میلی لیتر آب مقطر در لوله ریخته و در اتوکلاو استریل گردید. پس از خنک شدن آب مقطر سترون، دو میلی لیتر عصاره به آن اضافه شد. برای غلظت‌های بعدی، دو میلی لیتر از هر لوله داخل لوله بعدی ریخته و از هر غلظت دو میلی لیتر در لوله حاوی ۱۸ ml محیط کشت سترون اضافه گردید؛ غلظت آخر به ظرف پتری منتقل گردید؛ به این ترتیب غلظت‌های مشخص شده، تهیه شد. این آزمایش در سه تکرار برای هر عصاره جداگانه انجام شد. در نهایت، میزان رشد قارچ نسبت به شاهد و سایر غلظت‌ها داخل ظرف پتری با استفاده از فرمول زیر (رهاننده و همکاران، ۱۳۸۵؛ Fakoori et al., 2020) مورد بررسی قرار گرفت:

$$\text{درصد بازداری از رشد} = \frac{\text{قطر رشد پرگنه تیمار} - \text{قطر رشد پرگنه شاهد}}{\text{قطر رشد پرگنه شاهد}} \times 100$$

نتایج

اثر بازدارنده عصاره آبی بر قارچ *S. sclerotiorum*

در بیشترین غلظت عصاره‌های آبی حاصل از گیاهان، همگی توانایی بازداری از رشد قارچ را داشتند. بیشترین میزان بازداری ۸۵٪ از عصاره آبی سیر به دست آمد. عصاره‌های حاصل از نعناع فلفلی، چای و آویشن به ترتیب با ۶۶/۶۶٪، ۵۴/۶٪ و ۴۱/۸۵٪ بازدارندگی در گروه دوم آماری قرار گرفتند. در غلظت ۱۰ ppm عصاره‌های سیر و نعناع فلفلی به ترتیب با ۸۳٪/۲۰ و ۸۲٪/۱۰ قابلیت بازداری از رشد ریشه‌ای قارچ را در سطح ظرف پتری داشتند (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی عصاره آبی گیاهان مورد بررسی بر قارچ *S. sclerotiorum*

Table 1. Comparison of the average inhibition percentage of aqueous extract of the studied plants on *S. sclerotiorum*

Average inhibition percentage					درصد بازدارندگی رشد		غلظت				
Neem	چریش	Thymus	آویشن	Tea	چای	Peppermint	نعناع فلفلی	Sیر	Garlic	Concentration	
0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	0 ^H	Control	شاهد
12.5 ^F		41.85 ^C		54.16 ^B		66.66 ^B		85 ^A		1000 ppm	
0 ^H		8.33 ^H		12.5 ^F		29.16 ^D		33.33 ^C		100 ppm	
0 ^H		0 ^H		4.12 ^H		10.82 ^E		20.83 ^E		10 ppm	

بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

According to the LSD test, means with the same letters do not have a significant difference at the 1% probability level.

اثر بازدارنده عصاره متانولی بر قارچ *S. sclerotiorum*

در این حلال بیشترین میزان بازداری از رشد ریشه‌ای قارچ توسط عصاره حاصل از چریش و چای به ترتیب با ۶۱/۵٪ و ۴۸/۹۱٪ در غلظت ۱۰۰۰ ppm دیده شد. در غلظت ۱۰۰ ppm عصاره چریش با ۳۷/۳۶٪ در این غلظت بیشترین بازدارندگی را داشت. در غلظت ۱۰ ppm هیچ‌کدام از عصاره‌های گیاهی قدرت بازداری از رشد رویشی قارچ را نداشتند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی عصاره متانولی گیاهان مورد بررسی بر قارچ *S. sclerotiorum*

Table 2. Comparison of the average inhibition percentage of methanolic extract of the studied plants on *S. sclerotiorum*

Average inhibition percentage			درصد بازدارندگی رشد			غلظت				
Neem	چریش	Thymus	آویشن	Tea	چای	Peppermint	نعناع فلفلی	Garlic	سیر	Concentration
0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	Control
61.5 ^A	8 ^D	48.91 ^A	17.22 ^C	10 ^D	1000 ppm	37.36 ^B	0 ^E	0 ^E	100 ppm	10 ppm
0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	10 ppm	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E

بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

According to the LSD test, means with the same letters do not have a significant difference at the 1% probability level.

اثر بازدارنده عصاره اتانولی بر قارچ *S. sclerotiorum*

بیشترین میزان بازدارندگی از رشد رویشی قارچ در این حلال در چای و چریش به ترتیب با ۵۶/۳۲٪ و ۵۱/۵٪ بازدارندگی در غلظت ۱۰۰۰ ppm به دست آمد. در غلظت بعدی عصاره‌های چای و چریش به ترتیب با ۲۷/۵٪ و ۲۳/۴۶٪ قابلیت بازدارندگی از رشد قارچ را در سطح ظرف پتری داشتند. در رقت سوم فقط عصاره حاصل از چای با ۱۲/۲۷٪ توانایی بازدارندگی از رشد رویشی قارچ را داشت. در این حلال کمترین میزان بازدارندگی از رشد رویشی قارچ در سه غلظت را عصاره سیر نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی عصاره اتانولی گیاهان مورد بررسی بر قارچ *S. sclerotiorum*

Table 3. Comparison of the average inhibition percentage of ethanol extract of the studied plants on *S. sclerotiorum*

Average inhibition percentage			درصد بازدارندگی رشد			غلظت				
Neem	چریش	Thymus	آویشن	Tea	چای	Peppermint	نعناع فلفلی	Garlic	سیر	Concentration
0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	Control
51.5 ^A	22.5 ^B	56.32 ^A	20.55 ^B	17.22 ^C	1000 ppm	23.46 ^B	4.71 ^E	0 ^E	100 ppm	10 ppm
0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	10 ppm	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E	0 ^E

بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

According to the LSD test, means with the same letters do not have a significant difference at the 1% probability level.

بحث

با توجه به رویکرد جایگزینی روش‌های سازگار با محیط زیست برای مدیریت قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، مطالعه فعالیت ضدقارچی عصاره‌های گیاهی ضروری است. در تحقیق حاضر نیز نشان داده شد تمامی عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی حاصل از گیاهان مذکور در بالاترین غلظت (۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) روی رشد قارچ *S. sclerotiorum* اثر بازدارنده از رشد میسلیمی

داشتند. استفاده از پایین ترین غلظت مورد استفاده (۱۰ پی پی ام) عصاره آبی سیر، نعنای فلفلی و چای نشان داد می توان از این غلظت عصاره در بازدارندگی قابل توجهی از رشد قارچ *S. sclerotiorum* استفاده نمود. در میان عصاره های الکلی تنها عصاره اتانولی چای در غلظت ۱۰ پی پی ام توانایی ممانعت از رشد قارچ *S. sclerotiorum* را داشت. لذا می توان توصیه نمود در آزمایشات مزرعه ای از عصاره های آبی سیر، نعنای فلفلی و چای و عصاره اتانولی چای در غلظت ۱۰ پی پی ام برای کاهش بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی استفاده شود. در تحقیقات بسیاری نشان داده شده که عصاره های آبی و الکلی حاصل از مواد گیاهی شامل اندام های رویشی (برگ، ریشه و شاخه) و اندام های زایشی (گل، میوه، غده، بانه و پیاز) گیاهانی مانند سیر، نعنای فلفلی، چای، آویشن و چریش دارای خاصیت بازدارندگی از رشد روی میکروارگانیسم های مختلف از جمله قارچ ها هستند. عصاره آبی حاصل از گیاه سیر از رشد و جوانه زنی اسپور قارچ *F. oxysporum* عامل بیماری بوته میری، ممانعت می نماید و تاکنون اغلب مطالعات انجام شده بر اساس خاصیت قارچ کشی عصاره سیر مؤثر بوده است؛ به طوری که فرضیه ای مبنی بر وجود ماده مؤثره آلیسین در سیر ارائه شده است و این ترکیب را دارای خاصیت قارچ کشی گیاه دانسته اند (جعفری ندوشن و همکاران، ۱۳۸۶). عصاره نعنای فلفلی روی ممانعت از رشد قارچ های متعددی همانند *Alternaria alternata*، *Botrytis cinerea*، *Colletotrichum acutatum* و *Pestalotiopsis* sp. تأثیر گذار است. نتایج آزمایشات حاضر نشان داد میزان تأثیر گذاری تمامی عصاره ها (آبی، متانولی و اتانولی) با افزایش غلظت عصاره افزایش می یابد. عبدالملکی و همکاران (۱۳۸۹) نیز در تحقیقی مشابه نشان دادند میزان تأثیر گذاری عصاره نعنای فلفلی با افزایش غلظت عصاره افزایش داشته است. همین محققین نشان دادند که عصاره آبی نعنای فلفلی قادر است رشد میسلیومی قارچ های مهم بیماری زای گیاهی را در شرایط آزمایشگاهی کنترل نماید (عبدالملکی و همکاران، ۱۳۸۹). طبق مشاهدات تحقیق حاضر، عصاره آبی گیاه نعنای فلفلی، روی ممانعت از رشد قارچ عامل بیماری سرخشکیدگی تأثیر بسیار خوبی داشته و می تواند تا ۶۶/۶۶ درصد از رشد آن جلوگیری کند. در آزمایش Tawfik و همکاران مشخص گردید که عصاره چای خاصیت قارچ کشی چشم گیری ایجاد می نماید و باعث ایجاد ممانعت رشدی در قارچ های *S. sclerotiorum*، *M. phaseolina*، *F. sporotrichoides* و *R. solani* می گردد. بیشترین تأثیر عصاره چای ناشی از حلال اتانولی بوده که نتایج ایشان با نتایج تحقیقات دیگر منطبق بود (Ping et al., 2008؛ Mbata et al., 2006؛ Hirsawa and Takada, 2004؛ Katsuhiko et al., 1999؛ Tawfik et al., 2000؛ ThirumalaiRaj et al., 2021). در تحقیق حاضر نیز نشان داده شد که عصاره چای با استفاده از هر سه حلال قابلیت بازدارندگی روی قارچ عامل بیماری زای دارد و نیز عصاره های آبی و اتانولی چای هر دو در غلظت ۱۰ پی پی ام در ممانعت از رشد قارچ *S. sclerotium* مؤثر بودند و عصاره اتانولی به مراتب مؤثر تر بوده است.

شیرزادی و ابوطالبی جهرمی (۱۳۹۷) ضمن بررسی اثر عصاره آویشن روی رشد قارچ پنی سیلیوم نشان دادند که آویشن در غلظت ۶۰۰ ppm، به طور کامل رشد قارچ پنی سیلیوم را مهار می کند. در تحقیقات دیگر نشان داده شد که این گیاه روی طیف وسیعی از عوامل بیماری زای قارچی تأثیر دارد (سنچولی و همکاران، ۱۳۹۴). هر چند در تحقیق حاضر عصاره آویشن صرفاً در غلظت های بالاتر از ۱۰۰ پی پی ام قدرت بازدارندگی از رشد قارچ *S. sclerotium* را داشت، ولی در عصاره متانولی حتی در غلظت ۱۰۰ ppm نیز بی تأثیر بود. نتایج این تحقیق نشان داد نوع حلال در استخراج مواد بازدارنده اهمیت بسیاری داشته و حلال قطبی همانند آب در استخراج ترکیبات موجود در سیر، نعنای فلفلی و چای بسیار بهتر از دو حلال دیگر است. بر این اساس، عصاره حاصل از این سه گیاه در حلال آبی بیشترین تأثیر را روی قارچ عامل بیماری زای نسبت به دو حلال دیگر داشتند. اثر بازدارنده عصاره به عوامل مختلف همانند نوع حلال، غلظت و نوع قارچ مورد بررسی بستگی دارد. ساز و کار دفاعی قارچ ها با یکدیگر متفاوت می باشد به همین دلیل به عصاره های مختلف و غلظت های آنها واکنش متفاوتی نشان می دهند.

References

منابع

- حسینی مقدم، ح. ۱۳۸۴. اصول پرورش کرم ابریشم. ۱۵۳ صفحه.
- جعفری ندوشن، ع.، دهقانی تفتی، م. و میرباقری، س. ۱۳۸۶. بررسی آزمایشگاهی اثرات ضد قارچی عصاره آبی سیر (*Allium sativu*) و ترکیب آن با فلوکونازول بر علیه گونه های کاندیدای شایع جدا شده از ضایعات کاندیدیازیس. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۱۴(۳): ۱۶۳-۱۵۳.
- رهاننده، ه.، نیک‌نژاد کاظم‌پور، م. و حسن‌زاده، ن. ۱۳۸۵. بررسی تأثیر باکتری‌های آنتاگونیستی عوامل پوسیدگی طوقه و ریشه درختان توت در استان گیلان. علوم کشاورزی ۱۲(۱): ۲۳۲-۲۲۳.
- سنجولی، ن.، غفاری، م. و قرایی، ا. ۱۳۹۴. بررسی مقایسه‌ای اثرات ضدقارچی اسانس‌های آویشن شیرازی، زیره سبز و میخک هندی *Aspergillus parasiticus* در مقایسه با فرمالین بر قارچ مولد آفلاتوکسین. پاتوبیولوژی مقایسه‌ای ایران ۱۲(۳): ۱۶۹۸-۱۶۹۱.
- شیرزادی، ح. و ابوظالبی جهرمی، ع. ۱۳۹۷. اثر بازدارندگی اسانس روغنی چند گیاه دارویی بر قارچ پنی‌سیلیوم جدا شده از پرتقال. دنیای میکروب‌ها ۱۱(۳): ۲۹۳-۲۸۸.
- عبدالملکی، م.، سالاری، م. و سعید، ع. ۱۳۸۹. بررسی اثر ضدقارچی گیاه نعناع فلفلی *Mentha piperita* L. بر برخی از قارچ‌های بیماری‌زایی گیاهی. گیاهان دارویی ۱۰(۳۸): ۳۸-۲۶.
- Belewu, M. A., Olatunde, O. A. and Giwa, T. A. 2009.** Underutilized medicinal plants and spices: chemical composition and phytochemical properties. *Journal of Medicinal Plant Research* 3(12): 1099-1103.
- Chou, C. L., Lin, L. L. and Chung, K. T. 1999.** Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. *International Journal of Food Microbiology* 48: 125-130.
- Fakoori, H., Rafiei karahroudi, Z. and Sedaghatfar, E. 2020.** Insecticide effect of rosemary and lavender essential oils on adult stage of *Callosobruchus maculatus*. *Bioagrica* 1(1): 1-9.
- Hirasawa, M. and Takada, K. 2004.** Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53(2): 225-229.
- Katsuhiko, M., Masami, Y. and Tsuneo, T. 1999.** In vitro and in vivo activities of tea catechins against *Helicobacter pylori*. *American Journal of Microbiology* 43(7): 1788-1791.
- Marchese, A., Barbieri, R., Sanches-Silva, A., Daglia, M., Nabavi, S. F., Jafari, N. J., Izadi, M., Ajami, M. and Nabavi, S. M. 2016.** Antifungal and antibacterial activities of allicin: A review. *Trends in Food Science & Technology* 52: 49-56.
- Martinez, M. C., Crozo, N. and Vilamiel, M. 2007.** Biological properties of onion and garlic. *Trend in Food-Science and Technology* 18: 609-625.
- Mbata, T. I., Debiao, L. and Saikia, A. 2006.** Antibacterial activity of the crude extract of Chinese Green Tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. *The Internet Journal of Microbiology* 7(10): 1571-1573.
- Nataro, J. P. 2006.** A typical enters pathogenic *Escherichia coli* typical pathogens. *Emerging Infectious Diseases* 12: 60-69.
- Ping, Su., Anders, H., Christina, N. and Hazel, M. 2008.** Synergistic effect of green tea extract and probiotics on the pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 1837-1842.
- Porter, N. 1999.** The Tea Plant. A publication of the southern Illinois university herbarium. Pp: 265-278.
- Tawfik, M. M., Sami, R. A. and Eman, T. A. 2000.** Effect of garlic bulb extract on the growth and enzymatic activities of rhizosphere and rhizoplane fungi. *Mycopathologia* 152: 143 146.
- ThirumalaiRaj, B., Ramasamy, R. and Sivakumar D. 2021.** Antibacterial, antifungal and anticorrosion properties of green tea polyphenols extracted using different solvents. *Asian Journal of Biological and Life Sciences* 10(1): 62-66.

The inhibitory effect of five plant extracts on the pathogen of mulberry dieback disease (*Sclerotinia sclerotiorum*) in laboratory conditions

H. Rahanandeh^{1*} and E. Sedaghatfar²

Received: 26 Jun., 2022

Accepted: 9 Sep., 2022

ABSTRACT

The dieback disease of mulberry tree caused by *Sclerotinia sclerotiorum* is one of the important diseases of mulberry trees in the world and Iran. The aim of this research was to prepare a suitable extract to combat the disease-causing fungus with the least side effects for silkworms. The effect of the extract of five plants (garlic, thymus, peppermint, tea and neem) in three solvents (water, ethanol and methanol) was studied by mixing method in culture medium during 2018-20. The extracts were tested in three concentrations: 1000ppm, 100ppm, and 10ppm. Among the aqueous extract, garlic extract showed the highest inhibitory effect with more than 80% on the disease-causing fungus. In the second group, tea and peppermint showed the highest retention with 54.16% and 66.66%, respectively. Among the methanolic and ethanolic extracts, tea and neem showed the highest inhibition rates, (48.91% and 61.5%) and (56.32% and 51.5%) respectively. As the concentration of the extract decreased, the inhibitory rate decreased. The inhibitory rate of extracts depends on various factors such as solvent, concentration and mushroom type.

Key words: Extract, berries, tea, peppermint, *Sclerotinia sclerotiorum*

1. Assistant professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

2. Assistant professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

Corresponding author: Rahanandeh20@yahoo.com