

مقایسه عصاره چند گیاه با قارچ‌کش‌های ادی فنفوس و تری سیکلازول در کنترل قارچ عامل بیماری بلاست برنج [*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.] در شرایط مزرعه

سیده بهاره احمدی تولمی^۱، جلال جلالی سندی^۲، سید اکبر خداپرست^۲، محمد قدم‌پاری^۲، نادر حسن‌زاده^۱ و فریدون پاداشت دهکایی^۳

چکیده

تأثیر قارچ‌کشی ادی فنفوس، تری سیکلازول و عصاره گیاهان آقطی، زیتون تلخ، سرخس، گندواش، هفت‌بند و مرزه روی قارچ عامل بیماری بلاست برنج [*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.] بررسی شد. برگ‌های تازه گیاهان مذکور جمع‌آوری و در سایه خشک و تبدیل به پودر شدند و سپس عصاره الکلی (اتانولی و متانولی) آن‌ها استخراج شد. ابتدا اثر قارچ‌کشی عصاره‌ها در محیط کشت غذایی PDA روی قارچ مذکور مورد بررسی قرار گرفت و پس از اطمینان از اثر قارچ‌کشی این عصاره‌ها در آزمایشگاه، بررسی‌ها در شرایط مزرعه با عصاره‌های اولیه (بدون رقیق کردن) در مقایسه با قارچ‌کش‌های ادی فنفوس و تریسیکلازول انجام شد. عصاره پاشی و سم‌پاشی روی نشا برنج (با نام محلی بینام) ۱۴ روزه حساس به بلاست انجام گرفت. گلدان‌های برنج عصاره‌پاشی شده در بین ردیف‌های گیاه برنج آلوده در شالیزار قرار داده شد تا آلودگی به‌طور طبیعی تحقق یابد. آثار بیماری از روز پنجم در نمونه‌ها پدیدار شد. شدت بیماری هر یک از برگ‌ها به صورت عددی ارزیابی گردید و میانگین آلودگی برای هر گلدان محاسبه و شدت بیماری هر بوته محاسبه شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های مورد استفاده در این پژوهش توانستند از رشد قارچ عامل بلاست جلوگیری نمایند. بیش‌ترین کنترل توسط عصاره متانولی و اتانولی گندواش به ترتیب با میانگین $۵/۴۲ \pm ۸/۸$ و $۱/۱۳ \pm ۸۴/۶$ درصد و سپس عصاره متانولی آقطی با میانگین $۱۰/۴۲۱ \pm ۷۳$ درصد به‌دست آمد. قارچ‌کش‌های ادی فنوس و تریسیکلازول به ترتیب $۳/۵۷ \pm ۷۲/۵$ و $۴/۳۴ \pm ۵۶/۴$ درصد بازدارندگی را نشان دادند. نتایج حاکی از آن بود که عصاره‌های آزمایش شده پتانسیل لازم برای کنترل قارچ عامل بیماری بلاست برنج را دارند.

واژه‌های کلیدی: بلاست برنج، *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.، عصاره گیاهی، تری سیکلازول، ادی فنفوس

۱. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
 ۲. به‌ترتیب دانشیار و استادیاران گروه گیاهپزشکی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت
 ۳. پژوهشگر بخش گیاه پزشکی موسسه تحقیقات برنج کشور

مقدمه

گیاه برنج به‌وسیله عوامل مختلف بیماری‌زا اعم از قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها مورد حمله قرار می‌گیرد. در میان بیماری‌های برنج، بیماری بلاست یکی از بیماری‌های مهم در ایران و جهان به‌شمار می‌رود. این بیماری در جنوب و جنوب شرقی آسیا سالیانه ۵۵ میلیون دلار خسارت می‌زند. این خسارت در شرق آسیا بالاتر است (هردت، ۱۹۹۱) بلاست برنج می‌تواند تمام اندام‌های هوایی گیاه را آلوده کند. اما بیش‌ترین آلودگی در برگ‌ها صورت می‌گیرد. این بیماری می‌تواند تا ۹۰ درصد محصول را از بین ببرد (مهرتراه، ۲۰۰۳). استفاده بیش از حد از کودهای ازته و رعایت نکردن فاصله مناسب کشت، حساسیت گیاه برنج را به بلاست افزایش می‌دهد.

روش‌های مختلفی برای مدیریت بلاست برنج توسط پژوهش‌گران پیشنهاد شده است که در این میان می‌توان به استفاده از قارچ‌کش‌ها، کشت واریته‌های مقاوم، تعادل در استفاده از نیتروژن، عوامل بیولوژیکی و القا مقاومت توسط مواد شیمیایی اشاره نمود. با توجه به تغییرپذیری و تنوع زیاد عامل بلاست برنج، استفاده از واریته‌های مقاوم را با مشکل مواجه می‌سازد. هم‌چنین چون این بیماری اندام‌های هوایی را مورد حمله قرار می‌دهد (اویو، ۱۹۸۹) بنابراین عوامل بیولوژیکی مورد استفاده برای کنترل این بیماری با توجه به شرایط آب و هوایی استان‌های شمالی ایران توسط باران شسته می‌شوند. در میان روش‌های مختلفی که برای کنترل این بیماری توصیه شده است، کنترل شیمیایی یکی از روش‌هایی است که به‌طور گسترده در برنج کاری‌های ایران استفاده می‌شود (مشاهدات شخصی). کاربرد سموم شیمیایی به‌منظور کنترل این بیماری عوارض متعددی از قبیل مقاوم شدن قارچ عامل بیماری بلاست در مقابل آن، خاصیت گیاه‌سوزی روی برنج، پایداری کم در مقابل شستشو در اثر بارندگی، اثرات زیست محیطی و سمیت برای جانوران دارد (دیس‌اوپورن، ۱۹۹۴؛ ایشینگورا، ۱۹۹۴؛ کیم، ۱۹۹۴ و راتو، ۱۹۹۴).

به‌دلیل گسترش استرین‌های با مقاومت چندگانه به قارچ‌کش‌ها و محدود بودن ترکیبات سنتزی قارچ‌کش،

ضروری است تا گروه‌های جدیدی از قارچ‌کش‌ها و ترکیباتی که مکانیسم مقاومت را می‌شکنند کشف شوند. در سالیان اخیر پژوهش‌های زیادی روی آفت‌کش‌های با منشا طبیعی صورت گرفته است. در این میان عصاره‌های گیاهی پتانسیل بالایی را برای کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی دارند (شکاری و همکاران، ۲۰۰۸ و آمادیوها، ۲۰۰۰). تاثیر قارچ‌کشی عصاره‌های گیاهان *Polyathia longifolia* Sann. و *Ranunculus sceleratus* L. روی عوامل بیماری‌زا به اثبات رسیده است (دیکسیت و تریپاتی، ۱۹۷۵؛ آناپورنا و همکاران، ۱۹۸۳؛ لاپیس و دامانکوس، ۱۹۷۸؛ متکالف، ۱۹۸۰؛ کاردلینا، ۱۹۸۸؛ گاتلر، ۱۹۹۸ و نایدو، ۱۹۹۸) و هم‌چنین جلوگیری از رشد قارچ *Corynespora cassiicola* روی گیاه *Hevea brasiliensis* L. با استفاده از پنج گیاه دارویی *Ageratum conyzoides* L.، *Emilia Centrosema pubescens* Benth. و *Ocimum basilicum* Muell. *coccinea* Sweet. و *Solanum torvum* Sw. (اگبیور و آدیکنول، ۲۰۰۵) به اثبات رسیده است. اثر عصاره روغنی *Caesulia axillaries* Roxb. روی کنترل بیماری لکه قهوه‌ای برنج که توسط *Bipolaris oryzae* ایجاد می‌شود موثرتر از ۸ نوع قارچ‌کش مصنوعی گزارش شده است و سمی بودن زیاد آن علیه این بیماری نشان داده شده است (پاندی و همکاران، ۱۹۸۲). عصاره برگ گیاهان *Ocimum sanctum* L. و *Nyctanthes arbortritis* L. در آزمایشگاه روی رشد شعاعی میسیلیوم قارچ عامل بیماری بلاست برنج موثر بوده و در گلخانه نیز کاملاً بیماری را کنترل کرده است (تیواری و نایک، ۱۹۹۱).

استفاده از عصاره طبیعی گیاهان در صورتی که اثرات بازدارندگی موثر و قابل مقایسه با ترکیبات شیمیایی مصنوعی داشته باشد، جایگزین‌های مناسبی برای آفت‌کش‌های سنتزی خواهد بود. قارچ‌کش هینوزان توسط سازمان حفظ نباتات برای کنترل این بیماری توصیه شده است (مصلی نژاد، ۱۳۸۱). قارچ‌کش تری سیکلازول نیز جزء قارچ‌کش‌های موثر روی بلاست برنج بوده که از سنتز ملانین در این قارچ جلوگیری

توسط همزن با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به حالت نیمه جامد (خمیر) درآورده شد.

هنگام استفاده، ۲/۵ گرم از هر یک از عصاره‌های نیمه جامد با ۳۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون رقیق شد و به‌عنوان عصاره ۱۰۰ درصد در آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند (تیواری، ۱۹۸۶).

کلیه غلظت‌ها قبل از استفاده به‌طور جداگانه، در زیر هود به‌وسیله فیلتر ۰/۲۲ میکرون میلی‌پور سترون شدند و به‌میزان یک میلی‌لیتر درون میکروتیوب‌های سترون تقسیم شدند و تا موقع مصرف (کمتر از ۴۸ ساعت) در یخچال نگهداری شدند (لین و سوزوکی، ۲۰۰۳).

ب- بررسی اثر عصاره‌ها روی رشد میسلیمی قارچ

در زیر هود و در کنار شعله یک میلی‌لیتر از عصاره‌های تهیه شده اتانلی [Ethanollic Mother Extract (EME)] و یک میلی‌لیتر از عصاره‌های متانلی [Methanollic Mother Extract (MME)] به‌طور جداگانه به ۹ میلی‌لیتر از محیط کشت PDA مذاب با دمای حدود ۵۵ درجه سانتی‌گراد افزوده شد، پس از هم‌زدن محتویات لوله، محیط کشت یکنواخت به‌دست آمده و در یک تشتک به قطر ۹ سانتی‌متر ریخته شد (هارسفال، ۱۹۹۶). پس از سرد شدن و انعقاد محیط کشت، قرص‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از پرگنه ۵ روزه قارچ *P. grisea* جدا و در مرکز تشتک حاوی محیط PDA همراه با عصاره‌های گیاهی قرار داده شد، برای هر تیمار ۵ تکرار در نظر گرفته شد (آمادیا، ۲۰۰۰).

تشتک مایه‌زنی شده پس از ۵ روز به‌روش اندازه‌گیری قطر رشد پرگنه قارچ حول قرص مرکزی برحسب میلی‌متر ثبت و درصد باز دارندگی رشد میسلیم نسبت به شاهد طبق رابطه زیر محاسبه شد (پاندی و همکاران، ۱۹۸۲).

$$MGI = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times \frac{100}{1}$$

D_c = متوسط قطر کلنی قارچ‌ها در پلیت شاهد

D_t = متوسط قطر کلنی قارچ‌ها در پلیت تیمار شده با

عصاره

می‌کند (موتویاما و یاماگوجی، ۲۰۰۳). این پژوهش به منظور تعیین اثر تعدادی عصاره گیاهان بومی گیلان روی بیماری بلاست برنج مورد بررسی قرار گرفته تا تاثیر برخی از این گیاهان در مقایسه با ادی فنفوس و تری سیکلازول جهت کنترل این بیماری مشخص شود.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه عصاره از گیاهان مورد بررسی و خالص‌سازی آن‌ها

در این پژوهش در مجموع شش گونه گیاهی که پنج گونه بومی گیلان شامل: آقطی (*Sambucus ebulus* L.)، گندواش (*Artemisia annua* L.)، هفت بند (*Polygonum persicaria* L.) و سرخس (*Pteridium aquilinum* (L.) Kum) جمع‌آوری شده از اطراف شالیزارهای رشت و زیتون تلخ (*Mellia azedarach* L.) جمع‌آوری شده از شهرستان صومعه‌سرا و هم‌چنین گیاه مرزه (*Satureja sp.* L.) خریداری شده از بازار پس از تایید نام گونه در بخش هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان استفاده شد.

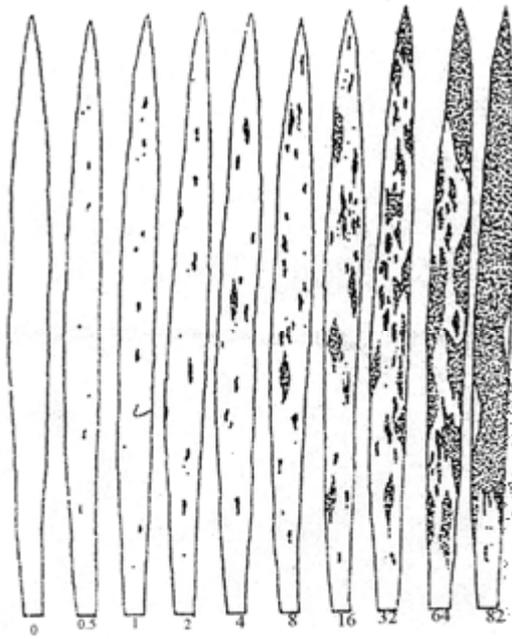
پس از بررسی مقدماتی روی روش‌های مختلف نهایتاً از روش تیواری (۱۹۸۶) جهت استخراج عصاره استفاده شد. بر این اساس پس از جداکردن برگ‌ها از شاخه‌ها و شستشوی آن‌ها با آب مقطر سترون، به مدت ۴۸ ساعت در آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و به‌وسیله آسیاب پودر شدند. ۳۰ گرم از پودر تهیه شده به همراه ۳۰۰ میلی‌لیتر الکل متیلیک و یا الکل اتیلیک ۷۰ درصد (به‌عنوان حلال) به‌طور جداگانه در دستگاه مخلوط‌کن برقی کاملاً مخلوط شدند. سوسپانسیون‌های حاصله در ظرفی درپوش‌دار به مدت ۲۴ ساعت در داخل یخچال نگهداری شدند. محلول رویی توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. کلیه محلول‌های حاصل از صافی به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلاء دورانی به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد، سپس جهت حذف کامل آب موجود در عصاره‌ها هر کدام به‌طور جداگانه درون ظرف‌های دهان‌گشاد ریخته شد و به‌مدت ۳ الی ۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد

در کلیه این آزمایش‌ها از جدایه ۱۳۳ که گروه سازگار رویشی آن VCG-2 و نژاد آن IA8I بود از موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) تهیه و استفاده شد. بذر برنج حساس به بلاست که با نام محلی «بینام» شناخته می‌شود نیز از موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) تهیه شد و به تعداد ۵۰ عدد داخل گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک مزرعه کاشته شدند. پس از ۱۴ روز که ارتفاع نشاهای برنج به حدود ۲۰ سانتی‌متر رسید مورد عصاره پاشی قرار گرفتند.

بررسی اثر عصاره‌ها روی کنترل بیماری در شرایط مزرعه

۲۵ میلی‌لیتر عصاره تازه تهیه شده (حداکثر ۴۸ ساعته) توسط آبپاش مخصوص عصاره پاشی روی ۵ بوته پاشیده شد تا تمام سطح برگ نشا برنج با دریافت حدود ۵ میلی‌لیتر از عصاره کاملاً خیس شوند. برای شاهد نیز از ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون استفاده شد. گلدان‌های برنج عصاره پاشی شده در بین ردیف‌های کاشته شده برنج آلوده در شالیزار تحقیقاتی موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) قرار داده شدند. وضعیت استقرار به صورت «تکرار و شاهد» و هم راستا با ردیف‌های برنج‌های کاشته شده (بین دو کرت) شالیزار آلوده به بلاست به صورت کاملاً تصادفی انجام شد تا آلودگی به‌طور طبیعی تحقق یابد. برگ نشاهای مورد آزمایش هر روز صبح به‌منظور رویت احتمالی لکه‌های دوکی شکل خاص بلاست مورد بازدید قرار گرفت. علایم بیماری حوالی روز پنجم در نمونه‌ها پدیدار شدند و پس از ۱۵ روز تمامی برگ‌ها اعم از سالم و آلوده پس از قطع از ناحیه غلاف به آزمایشگاه منتقل شد و بر اساس مرجع موجود (ایری، ۱۹۹۳) شدت بیماری هر یک از برگ‌ها به صورت عددی (صفر تا شانزده) ارزیابی گردید (شکل ۱) و میانگین آلودگی برای هر گلدان محاسبه و میانگین شدت بیماری هر بوته با فرمول زیر مشخص شد:

شدت بیماری در تیمار
درصد کنترل بیماری = ۱ - $\frac{\text{شدت بیماری در تیمار}}{\text{شدت بیماری در شاهد}}$



شکل ۱: معیار اندازه‌گیری برای درجه‌بندی شدت بیماری بلاست برگی

در این بررسی برای هر تیمار از پنج تکرار و پنج شاهد استفاده شد و طرح آزمایشی مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی بود که تیمارها شامل عصاره‌های خالص اتانولی و متانولی گیاهان (آقطی، گندواش، هفت‌بند، سرخس، زیتون تلخ و مرزه) بود. تیمارهای ادی فنفوس و تری سیکلازول بر اساس دوز توصیه شده به ترتیب ۰/۵ و ۰/۲۵ در هزار جهت مقایسه به کار گرفته شدند.

ج- تجزیه و تحلیل آماری

قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، تبدیل داده‌های درصدی به آرک سینوس انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد به‌وسیله نرم افزار SAS (۶۰۱۲) انجام شد.

جمع کل درجات برگ‌های بیمار
شدت بیماری = $\frac{\text{جمع کل درجات برگ‌های بیمار}}{\text{تعداد برگ‌های درجه بندی شده}}$

تعداد برگ‌های درجه بندی شده

نتایج و بحث

اثر عصاره‌ها بر بازدارندگی رشد شعاعی قارچ *P. grisea*

از میان ۶ گیاه مورد بررسی عصاره‌های متانولی و اتانولی دو گیاه گندواش و آقطی به‌طور صد درصد مانع از رشد شعاعی قارچ شدند (جدول ۱). و عصاره متانولی گیاهان هفت‌بند، سرخس، زیتون تلخ و مرزه به‌ترتیب با درصد بازدارندگی $۶۲/۲۳ \pm ۳/۵۱$ ، $۷۴/۶۱ \pm ۱/۳۳$ ، $۴۴/۳۹ \pm ۳/۱۸$ و $۵۶/۳۳ \pm ۰/۹۸$ به‌طور موثر از رشد قارچ جلوگیری نمودند. در بین عصاره‌های مورد آزمون عصاره اتانولی سرخس با میانگین بازدارندگی $۱۶/۷۱ \pm ۲/۲۹$ درصد کم‌ترین تاثیر را روی قارچ عامل بلاست برنج داشت. نتایج آزمون‌های زیست-سنجی روی قارچ عامل بلاست نشان می‌دهد که تمام عصاره‌های مورد آزمون پتانسیل لازم برای کنترل این قارچ را دارند. به همین دلیل درصد کنترل این بیماری با استفاده از عصاره‌های متانولی و اتانولی در شرایط مزرعه‌ای بررسی شد و میزان کنترل این عصاره‌ها با میزان کنترل قارچ‌کش‌های متداول در کنترل بیماری بلاست (ادی فنغوس و تریسیکلزول) مقایسه شد تا مشخص شود که آیا در شرایط این عصاره‌های گیاهی کارایی لازم برای کنترل بیماری بلاست برنج را دارند؟

درصد کنترل بیماری بلاست برنج در شرایط مزرعه‌ای

درصد کنترل بیماری بلاست برنج در شرایط مزرعه‌ای در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که بیش‌ترین کنترل توسط عصاره اتانولی و متانولی گندواش به‌ترتیب با میانگین $۸۴/۶ \pm ۱/۱۳$ و $۸۶/۸ \pm ۵/۴۲$ درصد صورت گرفت. مقایسه درصد کنترل بیماری توسط عصاره‌های متانولی و اتانولی نشان داد که عصاره‌های متانولی گیاهان گندواش، هفت‌بند و مرزه با عصاره اتانولی‌شان اختلاف معنی‌داری ندارند. اما عصاره اتانولی گیاه آقطی موثرتر از عصاره متانولی، عصاره سرخس موثرتر از اتانولی و در مورد زیتون تلخ عصاره متانولی موثرتر از عصاره اتانولی می‌باشد (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌های اتانولی و متانولی گندواش موثرتر از قارچ‌کش ادی فنغوس بوده و می‌تواند در کنترل بیماری بلاست برنج مورد توجه قرار گیرد. میزان کنترل عصاره‌های اتانولی آقطی، متانولی هفت‌بند و متانولی سرخس با درصد کنترل قارچ‌کش ادی فنغوس اختلاف معنی‌داری ندارد (جدول ۲). همچنین عصاره‌های متانولی و اتانولی گندواش، اتانولی آقطی، متانولی هفت‌بند و متانولی سرخس موثرتر از قارچ‌کش تری سیکلازول می‌باشند (جدول ۲).

جدول ۱: مقایسه میانگین اثر عصاره متانولی و اتانولی در دوره کشت ۱۵ روزه بر درصد بازدارندگی رشد کلنی قارچ *P. grisea*

نام گیاه	درصد باز دارندگی روی رشد میسیلیوم	
	عصاره متانولی (۱۰۰ درصد)	عصاره اتانولی (۱۰۰ درصد)
گندواش	$۱۰۰ \pm ۰a$	$۱۰۰ \pm ۰a$
آقطی	$۱۰۰ \pm ۰a$	$۱۰۰ \pm ۰a$
هفت‌بند	$۶۲/۲۳ \pm ۳/۵۱b$	$۶۰/۵۴ \pm ۰/۵۷b$
سرخس	$۱۶/۷۱ \pm ۲/۲۹e$	$۷۴/۶۱ \pm ۱/۳۳b$
زیتون تلخ	$۴۴/۳۹ \pm ۳/۱۸۶d$	$۵۲/۷۱ \pm ۱/۸۶c$
مرزه	$۴۷/۸۲ \pm ۰/۶۴c$	$۵۶/۳۳ \pm ۰/۹۸c$

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۲: مقایسه میانگین درصد کنترل بیماری توسط عصاره متانولی و اتانولی عصاره‌های گیاهی و

قارچ‌کش‌های ادی فنفوس و تریسیکلزول

عصاره متانولی میانگین±SD	عصاره اتانولی میانگین±SD	نام گیاه به لاتین	نام فارسی گیاه و قارچ کش
۸۶/۸±۵/۴۲ a	۸۴/۶±۱/۱۳ a	<i>A. annua</i>	گندواش
۵۱±۶/۲۵c	۷۳±۱۰/۲۱ b	<i>S. ebulus</i>	آقطی
۶۸/۳±۹/۰۲ b	۶۵/۵ ±۳/۶۴ bc	<i>P. persicaria</i>	هفت‌بند
۶۸/۹±۱۴/۱۲ b	۲۸/۴±۲/۳ e	<i>P. aquilinum</i>	سرخس
۵۴/۴±۱۴/۵۱ c	۴۴/۲±۸/۲۹ d	<i>M. azedarach</i>	زیتون تلخ
۵۰/۹±۱۰/۸۸ c	۵۷/۷±۱۳/۵ c	<i>S. hortensis</i>	مرزه
	۷۲/۵±۳/۵۷ b		ادی فنفوس
	۵۶/۴±۴/۳۴ c		تری سیکلازول

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

سرخس [*Pteridium aquilinum* (L.) Kum]، زیتون تلخ (*Mellia azedarach* L.) و مرزه (*Satureja sp* L.) روی قارچ عامل بلاست به اثبات رسید و نشان داده شد که عصاره این گیاهان دارای مواد بازدارنده بیماری بلاست می‌باشند. لین و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که عصاره اتانولی به‌دست آمده از پودر ریشه گیاه *Ophiopogon japonicas* Ker-Gwl بازدارنده رشد هیفی دو جدایه *P. grisea* یعنی (MAFF101002 و MAFF305480) می‌باشد و عصاره این گیاه دارای پتانسیل بازدارندگی روی *P. grisea* بوده و می‌تواند در کنترل بیماری بلاست مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین این پژوهش‌گران ۶ ماده شیمیایی آللوپاتیک را که در عصاره وجود داشت شناسایی کردند. آمادیوها (۲۰۰۰) اثر عصاره‌های اتانولی، آبی و روغنی درخت چریش را روی بیماری بلاست برنج مورد بررسی قرار داد و نتیجه‌گیری نمود که این عصاره‌ها رشد شعاعی بلاست برنج را در شرایط آزمایشگاهی کاهش داده و از رشد و گسترش بیماری بلاست در گیاهان برنج در شرایط گلخانه‌ای می‌کاهد. او نتیجه‌گیری نمود که عصاره روغنی بهترین عصاره در کنترل بیماری بلاست بود و بعد از عصاره روغنی عصاره‌های اتانولی، آب سرد و آب گرم به‌ترتیب بیش‌ترین تاثیر را داشتند. بنابراین عصاره‌های درخت

نتایج بررسی‌های مزرعه‌ای در جلوگیری از رشد قارچ *P. grisea* با نتایج آزمایشگاهی قابل مقایسه است. هم‌چنین آمادیوها (۲۰۰۰) نشان می‌دهد که عصاره چریش (عصاره آب سرد، آب گرم، الکل و روغنی) روی وقوع بیماری عامل بلاست موثر می‌باشد به‌طوری‌که درصد وقوع بیماری در تیمار روغنی حدود ۱۰/۲ درصد می‌باشد. پژوهش‌ها نشان داده است که خواص ضدقارچی میخک و اکسیر ترکی (Sweet flag) و میزان جلوگیری از رشد طولی هیف و درصد جوانه‌زنی کنیدیوم وابسته به عصاره نوع گیاه بوده است (اگبیور و آدکونل، ۲۰۰۵). تفاوت در میزان بازدارندگی و درصد کنترل بیماری بلاست برنج توسط عصاره اتانولی و متانولی سرخس شاید ناشی از متفاوت بودن میزان حلالیت ماده (مواد) موثره موجود در گیاه سرخس در حلال‌های اتانول و متانول باشد. هرچند که وجود مواد موثره قارچ‌کش در عصاره گیاهان به‌وسیله چندین فاکتور از جمله روش استخراج، سن گیاه، زمان برداشت مواد گیاهی و حلال‌های استخراج‌کننده تحت تاثیر قرار می‌گیرد (آل‌عابد و همکاران، ۱۹۹۳).

در این پژوهش پتانسیل بازدارندگی عصاره‌های ۱۰۰ درصد تعدادی از گیاهان بومی نظیر آقطی (*Sambucus ebulus* L.)، گندواش (*Artemisia annua* L.)، هفت‌بند (*Polygonum persicaria* L.)،

چریش پتانسیل خوبی برای استفاده در مدیریت بیماری بلاست برنج دارند. نتایج ما نشان داد که عصاره‌های اتانولی و متانولی رشد شعاعی بلاست برنج را کاهش می‌دهد که با نتایج آماديوها (۲۰۰۰) هم‌خوانی دارد در بررسی حاضر نیز مشخص شد که بیش‌ترین خواص ضدقارچی عصاره گیاهان به‌ترتیب مربوط به *Artemisia annua* L. و بعد *Sambucus ebulus* L. است. تیواری (۱۹۹۵) خاصیت ضدقارچی *Ocimum sanctum* L. را در کنترل عامل بیماری بلاست مورد بررسی قرار داده و مشاهده نمود که عصاره گیاه مذکور اثر بازدارندگی روی رشد میسلیوم و جوانه‌زنی کنیدیوم‌های *P. grisea* دارد. اوگبور و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر ضد قارچی ۲۱ گونه گیاهی متعلق به چهار خانواده گیاهی را روی *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). Sac. (عامل آنتراکنوز) مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش‌گران نشان داد عصاره‌های *Ocimum basilicum* L. و سیر (*Allium sativum* L.) ۱۰۰ درصد اثر بازدارندگی روی رشد میسلیوم داشته و ۲۴ ساعت بعد از تلقیح از تندش کنیدیوم جلوگیری می‌کند.

نتایج ما نیز نشان می‌دهد که عصاره‌های اتانولی و متانولی گندواش موثرتر از قارچ‌کش‌های ادی فنفوس و تری سیکلازول می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای ترکیبات سنتزی مورد توجه قرار گیرد. با توجه به این‌که گیاه برنج به‌صورت غرقابی کشت می‌شود و استفاده از آفت‌کش‌ها موجب آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شود و تاثیر مخرب روی محیط زیست دارند، هم‌چنین با در نظر گرفتن کشت گسترده برنج در شمال ایران و فراهم بودن رطوبت و حرارت لازم برای گسترش بیماری بلاست، شناخت ترکیبات ایمن‌تر برای انسان و محیط زیست بسیار مهم می‌باشد. این پژوهش نشان می‌دهد که شاید بتوان از عصاره‌های گیاهی نظیر گندواش و یا ترکیبات موثر آن در شرایط مزرعه‌ای برای کنترل بیماری بلاست استفاده کرد.

منابع

مصلی نژاد، ه.، نوروزیان م. و محمد بیگی، ا. ۱۳۸۱. فهرست آفات، بیماری‌های گیاهی، علف‌های هرز و سموم توصیه شده. نشر آموزش کشاورزی. چاپ اول. ۱۱۲ص.

- Al-Abed, A. S., Qasem, J. R and Abu-Blan, H. A. 1993. Antifungal effect of some common wild plant species on certain plant pathogenic fungi. *Dirasat (pure Applied Science)*. 20: 149–158.
- Amadioha, A. C. 2000. Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protection*. 19:287-290.
- Amadioha, A. C. 1998. Control of powdery mildew of pepper (*Capsicum annum* L) by leaf extract of papaya (*Asimina triloba*). *Journal of Herbs, Spices and Medicinal plants*. 6:41-47.
- Annapurna, Y., Saktimtra, D. A., Iyengar, S. and Rao, U. T. 1983. Antimicrobial activity of leaf extract of *Polyalthia longifolia*. *Phytopathology Z.* 106, 183–185.
- Cardellina, J. H. 1988. Biologically natural products in the search for new agrichemicals. In: Gulter, H.S. (eds). *Biologically active natural products: Potential use in agriculture*. American Chemical Society, Washington. pp 305-311.
- Disihaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand. *Rice Blast Disease IRRS, the Philippines*. 333-342.
- Dixit, S. N. and Tripathi, S. G. 1975. Fungistatic properties of some seedling extracts. *Current Science*. 64: 279-280.
- Eksteen, D., Pretorius, J. C., Nieuwoudt, T. D. and Zietsman, P. C. 2001. Mycelial growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of South African plant species. *Annals Applied Biology*. 139(2):243-249.
- Gulter, H. G. 1998. Natural products and their potential in ariculture a personal overview. In: Gulter, H. G. (Ed). *Biologically active natural products, potential use in agriculture*. American Chemical Society, Washington. pp.1-2.
- Herd, W. R., 1991. Research Priorities for Rice Biotechnology. In: Khush, G. S. and Toenissen, G. H. (eds.), *Rice Biotechnology*. Alden Press Ltd., London, pp. 35-37.
- Horsfall, J. G. 1996. *Principle of fungicidal action*. Waltham Mass. USAp. 350.
- Ishinguro, K. 1994. Using stimulation models of exploring better strategies for the management of blast disease in temperate rice pathosystem. *Rice Blast Disease*. IRRI, The Philippines. pp. 435-449.
- IRRI. 1993. Evaluation of partial resistance to blast in irrigated rice, IRRI, The Philippines (Report) Kim, C. K. 1994. Blast management in high input yield potential, temperate rice ecosystems. *Rice blast disease*. IRRI. The Philippines. 451-462.
- Lapis, D. B. and Dumancus, E. E 1978. Fungicidal activity of crude plant extract on *Helminthosporium oryzae*. *Philippine Phytopathology*. 14:23-27.
- Lin, D. and Tsuzuki, E. 2003. Effect of methanol extracts from *Ophiopogon japonicus* on rice blast fungus. *Pest science and management*. 28(2):27- 28.
- Mehrotra, R. S. 2003. *Plant Pathology*. TATA McGraw Hill. Pub. Company Ltd. New Dehli, India.
- Metcalf, H. 1980. A preliminary report on the blast of rice, with notes on other rice disease. *Bulletin Southern Carolina Agricultural Experiment Station* 121: 43.
- Naidu, J. 1998. *In vitro* inhibition of rice fungal pathogens by extracts from higher plants. *International Rice Research Newsletter*. 65: 12.
- Ogbebor, N. and Adekunle, A. T. 2005. Inhibition of conidial germination and mycelial growth of *Corynespora cassicola* (Berk and Curt) of rubber (*Hevea brasiliensis* muell. Arg.) using extracts of some plants. *African Journal of Biotechnology*. 4(9): 996-1000.
- Ogbebor, N. O., Adekunle, A. T. and Enobakhare, D. A. 2007. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. causal organism of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extracts. *African Journal of Biotechnology*. 6(3):213-218.
- Okigbo, R. N. and Nmeka, I. A. 2005. Control of yam tuber rot with leaf extracts of *Xylopi aethiopica* and *Zingiber officinale*. *African Journal of Biotechnology*. 4(8):804- 807.

- Ou, S. K. 1989. Rice Diseases: Common Wealth Mycological Institute, Kew, England. pp. 380.
- Pandey, D. K., Tripathi, N. N., Tripathi, R. D. and Dixit, S. N. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptic sauceolens*. Z. Pflkrankh Pflschutz. 89: 344–349.
- Rao, K. M. 1994. Rice blast disease. Daya Publishing House. India, 180 pp.
- Motoyama, T. and Yamaguchi, I. 2003. Fungicides, melanin biosynthesis inhibitors. In: Plimmer, J. R., Gammon, D. W., Ragsdale, N. N. (eds.) Encyclopedia of agrochemicals. John Willy and Sons, Inc., Publications. Pp. 584-589.
- SAS institute. 1997. SAS/STAT User's guide, version 6.12. SAS Institute, Cary, Nc.
- Shekari, M., Sendi, J. J., Etebari, K., Zibae, A. and Shadparvar. A. 2008. Effects of *Artemisai annua* (Astraceae) on nutritional physiology of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae). Pest. Bioch. and Physiol. 91 :66–74
- Sivan, A., Ucko, O. and Chet, I. 1987. Biological control of fusarium crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field condition. Plant disease. 71: 587-595
- Tewari, S. N. 1986. A new techniques for bioassay of natural plant products. Current Science. 55:1137-1139.
- Tewari, S. N. 1995. *Ucimum sanctum* L., a botanical fungicide for rice blast Control. Tropical Science. 35:263 - 273.
- Tewari, S. N. and Nayak M. 1991. Activity of four-plant leaf extracts against three fungal pathogens of rice. Tropical Agriculture (Trinidad). 68:373-375.

Archive of SID

Comparison of Some Plant Extracts, with Edifenphos and Tricyclazole Fungicides on the Control of Rice Blast Disease agent [*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc]. in Field Condition

Ahmadi¹, S. B., Jalali Sendi², J., Khodaparast², S. A., Ghadamyari², M., Hasanzadeh¹, N. and Padasht Dehkaee³, F.

Abstract

Antifungal effects of edifenphos and triyclazole fungicides and also extracts of *Artemisia annua*, *Sumbucus ebulus*, *Polygonum persicaria*, *Peteridium aquilinum*, *Melia azedarach* and *Saturia sp.* On the control of rice blast disease were investigated. Fresh leaves of the plants were dried in shade and made into powder and then extracted using ethanolic and methanolic solvent. The effects of the extracts on the inhibition of radial growth of *Pyricularia grisea* was determined in laboratory by growing the fungus on potato dextrose agar (PDA) containing plant extracts and fungicides in Petri dishes. The results indicated that methanolic and ethanolic extracts of *A. annua* had the highest inhibitory effect on mycelial growth. After demonstration of antifungal activity of plant extracts, the field experiments were performed with stocks in comparison with edifenphos and tricyclazole. Fourteen day old rice (Binam variety) plants susceptible to blast were used for spraying the extracts and fungicides. The rice vases sprayed with different extracts were placed between the rows of infected cultivated rice in paddy field of National Institute of Rice Research (NIRR). The symptoms were appeared from day five onwards. The severity of the disease for each leaf was caculataed by digit and the mean infection for each vase was calculated accordingly. The results indicated that all extracts of the plants could prevent the fungus growth. The highest control was obtained by ethanolic and methanolic extracts of *A. annua* with 84.6 ± 1.13 and 86.8 ± 5.42 % respectively. The control percentage of *S. ebulus* was 73 ± 10.21 . The fungicides, edifenphos and triyclazole prevented fungal growth by 72.5 ± 3.57 and 56.4 ± 4.34 % respectively. Our results showed that all extracts had potential for controlling rice blast agent.

Keywords: Rice blast, *Pyricularia grisea*, Plant extracts, T ricyclazole, Edifenphos

1. M. S.c student and Associate Professor respectively, Plant Pathology Department, Azad Islamic University, Science and Research Unit, Tehran

2. Associate and Assistant Professors respectively, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Guilan, Rasht

3. Researcher, Plant Protection Unit, National Institute of Rice Research, Rasth