دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا:۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال نهم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۹
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 9(2), 2020

Research Article

Identification of growth inhibitor of *Sclerotinia sclerotiorum* in Indian mustard leaf

FATEMEH RAHIMI[1]✉, SIAMAK RAHMANPOUR[2], SAIED REZAEI[3], KAMBIZ LARIJANI[4]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran. 2- Seed and Plant Improvement Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Alborz Province, Karaj, Iran. 3- Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Science and Research of Islamic Azad University Tehran, Tehran, Iran. 4- Faculty of Chemistry, Science and Research of Islamic Azad University Tehran, Tehran, Iran

Received: 06.08.2020 Accepted: 12.23.2020

Rahimi F, Rahmanpour S, Rezaei S, Larijani K (2020). Identification of growth inhibitor of *Sclerotinia sclerotiorum* in Indian mustard leaf. Plant Pathology Science 9(2):28-36. DOI: 10.2982/PPS.9.2.28.

Abstract

Introduction: *Sclerotinia sclerotiorum* is the causal agent of white rot in aerial parts of a wide range of plants. The aim of this study was to compare the reaction of living tissue of Indian mustard leaves on the growth of this fungus under open and closed leaf stomata conditions. **Materials and Methods:** The pure isolate of the fungus was prepared by the hyphal-tip method on water-agar medium. An experiment was conducted in a fully randomized design with four treatments. The formation of fungal growth inhibiting compounds in the leaf tissue of all treatments was examined using GC-MS.

Results: Analysis of variance of the experimental data showed that the diameter of the fungal colony was significantly smaller in the treatment with open leaf stomata than in the other treatments. Gas chromatography data analysis showed that 1-propene-3-isothiocyanate as a volatile compound inhibits fungal growth in this treatment. **Conclusion:** The production of the volatile allyl isothiocyanate compound in Indian mustard leaf inhibits the growth of *S. sclerotiorum*.

Key words: Indian mustard, Isothiocyanate, *Sclerotinia* , Stomata

✉ Corresponding author:faterahimi@gamil.com

مقاله پژوهشی

شناسایی بازدارنده رشد *Sclerotinia sclerotiorum* در برگ خردل هندی

فاطمه رحیمی[۱]✉، سیامک رحمانپور[۲]، سعید رضائی[۳]، کامبیز لاریجانی[۴]
۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه ولی عصر (عج)، رفسنجان. ۲- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات دانه‌های روغنی، کرج. ۳-دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. ۴- دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۰۳

رحیمی ف، رحمانپور س، رضائی س، لاریجانی ک (۱۳۹۹) شناسایی بازدارنده رشد *Sclerotinia sclerotiorum* در برگ خردل هندی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۲):۳۶-۲۸. DOI:10.2982/PPS.9.2.28.

چکیده

مقدمه: قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* عامل پوسیدگی سفید قسمت‌های هوایی دامنه وسیعی از گیاهان است. هدف از این پژوهش، مقایسه واکنش بین بافت زنده برگ‌های خردل هندی بر رشد این قارچ، در شرایط روزنه‌های باز و بسته بود. **مواد و روش‌ها:** جدایه خالصی از قارچ به روش نوک ریسه روی محیط آب آگار تهیه گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار انجام شد. تشکیل ترکیب‌های بازدارنده رشد قارچ در بافت برگ همه تیمارها با دستگاه GC-MS بررسی شد. **یافته‌ها:** تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که قطر پرگنه قارچ در تیمار با روزنه‌های باز برگ به طور معنی‌داری کمتر از سایرین است. کروماتوگرافی گازی،۱-پروپن۳-ایزوتیوسیانات، را به عنوان ترکیب فرار بازدارنده رشد قارچ در این تیمار شناسایی کرد. **نتیجه‌گیری:** تولید این ترکیب فرار آلیل ایزوتیوسیاناتی در برگ خردل هندی مانع از رشد قارچ *S. sclerotiorum* می‌شود.

واژگان کلیدی: خردل هندی، ایزوتیوسیانات، *Sclerotinia* ، روزنه

مقدمه **Introduction**

خردل هندی *Brassica juncea* (L.) Czern. یک گیاه زراعی از تیره شب‌بویان یا کلم‌یان است. گلوکوزینولات، متابولیت ثانویه گوگرد و نیتروژن‌دار است که در گیاهان این تیره وجود دارد و سبب بازدارندگی رشد بعضی بیمارگرهای گیاهی می‌شود (Dixon 2007). زخم‌هایی که به‌دلیل شکستن سلول میزبان به‌وسیله هر آسیب، به وجود می‌آیند گلوکوزینولات در معرض آنزیم‌های میروزیناز قرار

✉ faterahimi@gamil.com

می‌گیرد. از تجزیه گلوکوزینولات ترکیبهای مانند تیوسیاناتها، ایزوتیوسیاناتها و اپی‌تیونیتریل‌ها به وجود می‌آیند (Wittstock and Halkier 2002). سازوکار فعالیت زیست‌کشی ایزوتیوسیانات علیه بیمارگرهای قارچی هنوز به دو نوع اثر مستقیم و غیرمستقیم شناخته شده است. در اثر مستقیم، ایزوتیوسیانات غیراختصاصی و تغییرناپذیر با پروتیین‌ها و آنزیم‌ها برای تشکیل محصولات پایدار واکنش می‌دهد. بنابراین، ایزوتیوسیانات به آسانی آنزیم‌ها را غیرفعال می‌کند (Brader et al. 2006). اثر غیرمستقیم ایزوتیوسیانات روی سلول‌های گیاهان هم آشکار شده است. تولیدات آب‌کافت گلوکوزینولات، به‌وسیله سازوکار سیگنال‌دهنده دفاع گیاهی مخصوصاً در دفاع مقاومت اکتسابی سیستمیک اختلال ایجاد کند (Truman et al. 2010). ایزوتیوسیانات بر رشد میسلیوم بعضی قارچهای بیمارگر گیاهی اثر سمی داشته است (Warmington and Rahmanpour et al. 2008 , Clarkson 2016) .

قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary که عامل پوسیدگی سفید ساقه و سایر قسمتهای هوایی دامنه وسیعی از گیاهان از جمله کانولا و آفتابگردان است، سازگاری بالایی با محیط‌های مختلف دارد و در اسیدیته خنثی به آرامی رشد کرده و اسیدهای آلی مانند اگزالیک ترشح می‌کند که محیط را اسیدی می‌کند، همچنین با اسیدی شدن محیط تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی و دیگر فاکتورهای بیماری‌زایی که باعث نرم کردن بافت گیاهی و آزاد شدن مواد غذایی برای قارچ و در نهایت تولید ساختار سختینه، می‌شوند شروع می‌گردد (Hegedus et al. 2016). اسید اگزالیک باعث کلاته‌شدن یون کلسیم و مواد پکتیکی دیواره سلولی گیاهان که تا سه تا پنج لایه از سلول‌های میزبان مجاور ریسه‌های قارچ را شامل می‌شود و بازدارندگی از واکنش گونه‌های فعال اکسیژنی - (Williams et al. 2011)، اختلال در کار سلول‌های روزنه و جلوگیری از فعالیت‌های پلی فنل اکسیدازهای گیاهی می‌شود (Yoruk and Marshall 2003). هدف از این پژوهش بررسی اثر سمی و مشخص کردن پتانسیل سیستم گلوکوزینولات-میروزیناز-ایزوتیوسیانات به عنوان سازوکار دفاعی خردل هندی روی رشد قارچ *Sclerotionia sclerotiorum* بود.

مواد و روش‌ها Materials and Methods

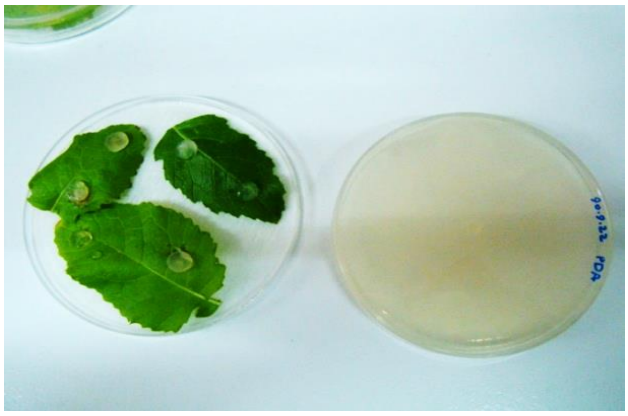
تکثیر جدایه قارچ و گیاه *Brassica juncea* var. Cutlass

نمونه‌های سختینه از کلکسیون موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد و در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد. برای تمام مراحل آزمایشگاهی یک جدایه مورد استفاده قرار گرفت. بذر *Brassica. j* var. Cutlass از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه

شد و گیاهان به‌منظور کاشت در گلخانه و درون گلدان‌های پلاستیکی با قطر داخلی ۱۴۰ میلی‌متر حاوی خاک مخلوط (با نسبت شن: لوم: پیت) مدت سه ماه در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس و نور روز طبیعی نگهداری شدند (Rahmanpour et al. 2008). از محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) جهت جداسازی قارچ استفاده شد. برای این منظور از محیط کشت PDA آماده ساخت شرکت Merck به میزان ۳۹ گرم در لیتر استفاده گردید. سختینه‌ها ابتدا با آب ژاول ده درصد به مدت سه تا پنج دقیقه ضدعفونی شدند. سپس در سه مرحله هر کدام به مدت سه دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. آنگاه به وسیله کاغذ صافی کاملاً خشک شدند و در زیر هود توسط چاقوی جراحی ضدعفونی شده با الکل و شعله و نصف شد و از قسمت سفید رنگ که میسلیوم‌های فشرده قارچ مشخص است، به‌طور مستقیم در وسط محیط سیب‌زمینی آگار قرار داده شدند. بعد از چهار روز رشد دادن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی، محیط کشت با رشد خوبی از میسلیوم‌ها به دست آمد، به‌طوری که میسلیوم‌ها به نزدیک انتهای محیط کشت رسیدند. با استفاده از چوب پنبه سوراخ‌کن دیسک‌های پنج میلی‌متری از لبه پرگنه‌های قارچی روی یک محیط جدید تحت شرایط قبلی قرار داده شد (Rahmanpour et al. 2008).

بررسی رشد قارچ روی بافت برگ خردل هندی

روی درب محیط کشت کاغذ صافی مرطوبی قرار داده شد و چند عدد برگ متوسط *Brassica.j* var. Cutlass شسته و گرد و خاک آن گرفته شد و روی کاغذ صافی قرار داده شدند. توسط چاقوی جراحی چند زخم کوچک روی برگ‌ها ایجاد شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل: تیمار اول به عنوان شاهد تنها حلقه‌ای از محیط PDA روی برگ‌ها قرار گرفت، در تیمار دوم حلقه میسلیومی چهار روزه قارچ در محیط PDA روی زخم قرار داده شد و شرایط روزنه‌های باز برای برگ فراهم شد (شکل ۱)، برای بررسی تأثیر مواد فرّار در شرایط روزنه‌های بسته، در تیمار سوم روی برگ‌های زخمی تنها حلقه PDA قرار گرفت و در تیمار چهارم، حلقه میسلیومی چهار روزه قارچ روی برگ‌های زخمی قرار گرفت و در هر دو تیمار اخیر سپس سطح برگها با پارافین مایع چرب شدند (Cessna et al. 2000). در تیمارها دو صفت مورد ارزیابی قرار گرفت، اول اندازه‌گیری قطر پرگنه قارچ بر روی محیط کشت PDA و دوم رشد قارچ بر روی برگ چرب و سالم اندازه‌گیری شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۹ انجام شد و شکل‌ها با استفاده از اکسل ۲۰۱۳ ترسیم گردید.



شکل ۱. حلقه میسلیومی *Sclerotinia sclerotiorum* روی برگ *Brassica juncea* var. Cutlass

Figure 1. *Sclerotinia sclreotiorum* fungal mycelium plug on *B. j* var. Cutlass leaf

کروماتوگرافی گازی به روش طیف سنجی جرمی

جزئیات مولکولی فرآیند بیوشیمیایی نمی‌تواند کاملاً روشن گردد تا این‌که مولکول‌های واکنش‌دهنده جدا شده و خصوصیات آن‌ها مشخص شود. دستگاه کروماتوگرافی گازی HP-6890 مجهز به دستگاه طیف سنجی جرمی HP-5973 و ستون HP-5MS (۵ درصد فنیل-دی متیل سیلوکسان) با ابعاد ۳۰ متر و ۰/۲۵ میلی متر، قطر لایه پوشیده شده ۰/۳۲ مورد استفاده قرار گرفت. هلیوم ۹۹/۹۹۹ درصد به عنوان گاز حامل با سرعت یک ml/min استفاده گردید. دمای تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس و دمای ستون در ابتدا ۶۰ درجه سلسیوس بود که به میزان هفت درجه بالا رفت. اطلاعات کروماتوگرافی موجود در نرم‌افزار دستگاه توسط Chromatography Data System Validator ساخت شرکت Axxiom Chromatography کالیبره شده بود (Brown 1996). مراحل کار به صورت زیر انجام شد: مقدار پنج گرم بافت تازه، در لوله سانتریفیوژ پانزده میلی‌لیتری ریخته شد. یک میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده به لوله اضافه شد. درب ظرف را بسته و برای مدت پانزده دقیقه ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. دو میلی لیتر $CaCl_2$ (۰/۰۱ مولار) به محلول اضافه شد. هفت میلی‌لیتر CH_2Cl_2 به لوله اضافه شد. درب ظرف را باز کرده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه به آهستگی روی هم‌زن هم زده شد. به مدت شش دقیقه ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. لایه آلی (لایه بالایی) جمع‌آوری شد و در ظرف کوچکی قرار داده شد. ۰/۴ گرم Na_2SO_4 اضافه شد، درب ظرف برداشته شد و برای مدت یک ساعت خشک شد. دقت شد که درب ظرف به دی‌کلرومتان مقاوم باشد. نمونه‌ها با استفاده از ویال‌های دستگاه (Teflon, PP.45 µm) به دستگاه کروماتوگرافی گازی فیلتر شد (Brown et al. 1996). در مرحله آخر، دستور چاپ گزارش کروماتوگرافی گازی صادر شد.

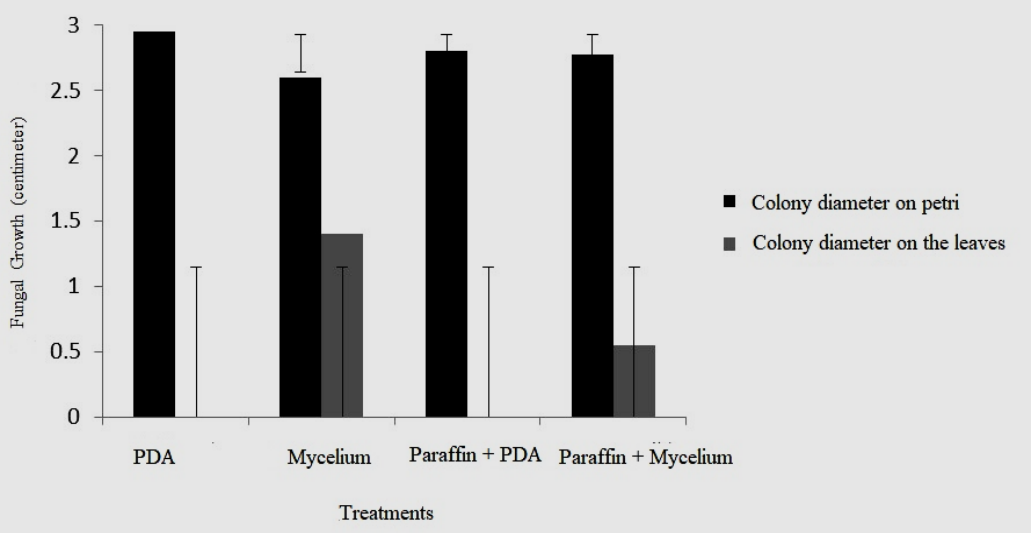
یافته‌ها Results

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که تأثیر تیمارها در رشد پرگنه قارچ در روی برگ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند. در مقایسه کلی، رشد پرگنه قارچ روی برگ چرب با روزنه‌های بسته بسیارکمتر از برگ‌های با روزنه‌های باز بدون پارافین بود (شکل۲) .

با کروماتوگرافی گازی به روش طیف‌سنجی جرمی، ۳۰ ترکیب شناسایی شدند، که فراوانی و زمان بازداری مختلفی داشتند و از آن میان ایزوتیوسیانات موجود، ۱- پروپن، ۳- ایزوتیوسیانات که یک آلیل ایزوتیوسیانات در اولین پیک شناسایی شد که زمان بازداری ۷/۳۱ دقیقه و فراوانی ۰/۰۹ (mAU) از مشخصات آن بود که به عنوان پیک اصلی شناسایی شد.

بحث Discussion

قارچ *Sclerotinia sclerotioum* به‌ندرت به پوستک نفوذ می‌کند و بین پوستک و روپوست رشد می‌کند و آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی و اسید اگزالیک و گونه‌های فعال اکسیژنی ترشح می‌شود (Guimaraes and Stotz 2004). گیاه نیز در نتیجه سلول‌های میزبان، به طور سیستمیک میروزیناز و گلوکوزینولات تولید کرده و ایزوتیوسانات رهاسازی می‌شود. یافته‌ها نشان داد در اثر حمله بیمارگر میزان تولید ایزوتیوسیانات بالاتر می‌رود، بنابراین قطر پرگنه قارچ محیط کشت در مقایسه با



شکل ۲. مقایسه رشد پرگنه قارچ *Sclerotinia sclerotioum* تحت شرایط روزنه‌های بسته و باز برگ *Brassica juncea* var. Cutlass .

Figure 2. Comparison of *Sclerotinia sclerotiorum* colony growth on open and closed stomata leaf of *Brassica juncea* var. Cutlass.

شاهد کاهش پیدا می‌کند. اسید اگزالیک باعث باز شدن روزنه‌های گیاه خردل هندی شده و خروج ترکیبها فرار به آسانی صورت می‌گیرد (Guimaraes and Stotz 2004). روزنه‌ها در حضور اسید اگزالیک متورم شده و تعادل K^+ به هم می‌خورد و ایزوتیوسیانات بیشتری تولید می‌شود (Cessna et al. 2000). ایزوتیووسیانات‌ها، نیتریل‌ها و تیوسیانات‌ها که محصولات تخریب گلوکوزینولات هستند باعث بسته شدن روزنه همراه با تولید گونه‌های فعال اکسیژنی خارج سلولی با واسطه پراکسیدازهای حساس به SHAM، تجمع گونه‌های فعال اکسیژنی داخل سلولی و نوسانات کلسیم (Ca^{+2}) (Hossain et al. 2013) و تولید نیتریک اکسید در گیاه مدل آرابیدوپسیس می‌شوند تا بستن روزنه منجر به سرکوب و از دست دادن آب و حمله به قارچها شود (Khokon et al. 2011). در شرایط روزنه‌های باز، به این علت که موقع حمله بیمارگر میزان تولید ایزوتیوسیانات بالاتر می‌رود قطر قارچ محیط کشت در مقایسه با شاهد کاهش پیدا می‌کند و زمانی که حلقه میسلیومی استفاده شود، تولید ایزوتیوسیانات بیشتر می‌شود (Guimaraes and Stotz 2004). رشد کمتر قارچ در شرایط روزنه‌های باز به علت آن است که موقعی که روزنه‌ها باز باشند ایزوتیوسیانات خارج می‌شود (Williams et al. 2011).

نتیجه‌گیری Conclusion

تولید ترکیب فرار ۱- پروپن، ۳- ایزوتیوسیانات رهاسازی شده از روزنه‌های برگ در مراحل اولیه آلودگی به قارچ *Sclerotinia sclerotioum* عامل بیماری پوسیدگی سفید ساقه کانولا سبب بازدارندگی از رشد و توسعه قارچ می‌شود. گلوکوزینولات به‌عنوان محافظ در خارجی‌ترین بخش گیاه، باعث ایجاد سازوکار دفاعی مستقلی می‌شود که در برابر نفوذ بیمارگر عمل کند. این ترکیب فرار بازدارنده رشد قارچ بیمارگر پس از تماس ریسه‌های قارچ، از گلوکوزینولات موجود در برگ خردل هندی بوجود آمده است.

منابع References

1. Ahuja I, De Vos R C, Rohloff J, (2016) *Arabidopsis myrosinases* link the glucosinolate-myrosinase system and the cuticle. Scientific Reports 66:1-14.
2. Brader G Mikkelsen, M D, Halkier B A, Tapio Palva E (2006) Altering glucosinolate profiles modulates disease resistance in plants. The Plant Journal 46:758-767.
3. Brown P D, Morra M J (1996) Hydrolysis products of glucosinolates in *Brassica napus* tissues as inhibitors of seed germination. Plant and Soil 181:307-316.

4. Brown P D, Morra M J, McCaffrey J P, Auld D L, Williams L (1991) Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. Journal of Chemical Ecology 17:2021-2034.
5. Brown P D, Tokuhisa J G, Reichelt M, Gershenzon J (2003) Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana.* Phytochemistry 62:471-481.
6. Cessna S G, Sears V E, Dickman M B, Low P S (2000) Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum*, suppresses the oxidative burst of the host plant. The Plant Cell 12:2191-2199.
7. Dixon G R (2007) Vegetable Brassicas and Related Crucifers (No. 14). CABI, 327p.
8. Fahey J W, Zalcmann A T, Talalay P (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry 56:5-51.
9. Guimaraes R L, Stotz H U (2004) Oxalate production by *Sclerotinia sclerotiorum* deregulates guard cells during infection. Plant Physiology 136:3703-3711.
10. Hegedus D D, Rimmer S R (2005) *Sclerotinia sclerotiorum*: when "to be or not to be" a pathogen? FEMS Microbiology Letters 251:177–84
11. Hegedus D D, Gerbrandt K, Coutu C (2016) The eukaryotic protein kinase superfamily of the necrotrophic fungal plant pathogen, *Sclerotinia sclerotiorum*. Molecular Plant Pathology 17:634–647.
12. Hossain M S, Ye W, Hossain M A Okuma E, Uraji M, Nakamura Y, Murata, Y (2013) Glucosinolate degradation products, isothiocyanates, nitriles, and thiocyanates, induce stomatal closure accompanied by peroxidase-mediated reactive oxygen species production in *Arabidopsis thaliana*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry 120928.
13. Khokon M A R, Jahan M S (2011) Allyl isothiocyanate (AITC) induces stomatal closure in Arabidopsis. Plant, Cell & Environment 34:1900-1906.
14. Rahmanpour S, Backhouse D, Nonhebel H M (2008) Studies on the role of the glucosinolate-myrosinase system resistance of oilseed rape to *Sclerotinia* sclerotiorum, Ph.D. Thesis, University of New England, Australia.
15. Rahmanpour S, Backhouse D, Nonhebel H M (2010) Reaction of glucosinolate-myrosinase defence system in Brassica plants to pathogenicity factor of *Sclerotinia sclerotiorum*. European Journal of Plant Pathology 128:429-433.
16. Redovnikovic I R, Glivetic T, Vorkapic-Furac J (2008) Glucosinolates and their potential role in the ant. Periodical Biologorum 110:297-309.
17. Rollins J A, Dickman M B (2001) pH signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*: identification of a pacC/RIM1 homolog. Applied and Environmental Microbiology 67:75-81.
18. Stotz, H U, Sawada Y, Shimada Y, Hirai, M Y, Sasaki E, Krischke M, Kamiya Y (2011) Role of camalexin, indole glucosinolates, and side-chain modification of glucosinolate-derived isothiocyanates in defense of Arabidopsis against *Sclerotinia sclerotiorum*. The Plant Journal 67:81-93.

19. Tholl D, Boland W, Hansel A, Loreto F, Rose U S R, Schnitzler J (2006) Practical approaches to plant volatile analysis. The Plant Journal 45:540-560.
20. Truman W M, Bennett M H, Trumbull C G, Grant M R (2010) Arabidopsis auxin mutants are compromised in systemic acquired resistance and exhibit aberrant accumulation of various indolic compounds. Plant Physiology 152:1562-1573.
21. Warmington R, Clarkson J P (2016) Volatiles from biofumigant plants has a direct effect on carpogenic germination of sclerotia and mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant and Soil 401:213-229.
22. Williams B, Kabbage M, Kim H J, Britt R, Dickman M B (2011) Tipping the balance *sclerotinia sclerotiorum* secreted oxalic acid suppresses host defenses by manipulation of the host redox environment. PLoS Pathogens e1002107
23. Wittstock U, Halkier B A (2002) Glucosinolate research in the Arabidopsis era. Trends in Plant Science 7:263-270.
24. Xu L, Li G, Jiang D, Chen W (2018) *Sclerotinia sclerotiorum*: an evaluation of virulence theories. Annual Review of Phytopathology 56:311-338.
25. Yoruk R, Marshall M R (2003) A survey on the potential mode of inhibition for oxalic acid on polyphenol oxidase. Journal of Food Science 68:2479-2485.
26. Szűcs Z, Plaszkó T, Cziáky Z, Kiss-Szikszai A, Emri T, Bertóti R, Gonda S (2018). Endophytic fungi from the roots of horseradish (Armoracia rusticana) and their interactions with the defensive metabolites of the glucosinolate-myrosinase-isothiocyanate system. BMC Plant Biology 18:85.