بررسی اثر مهارکننده عصاره چای سبز روی هشت گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی

Investigating the antifungal effect of green tea extract against eight plant pathogenic fungi

هادی رهاننده[1*] و عزت اله صداقت‌فر[2]

دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۹

چکیده

در سال‌های اخیر به‌علت استفاده بی‌رویه از روش‌های شیمیایی و مقاوم شدن بیمارگرها به آن، استفاده از گیاهان دارویی برای بازدارندگی از فعالیت بیمارگرها رونق یافته است. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد قارچی عصاره چای سبز، *Camellia sinensis*، با استفاده از حلال‌های آبی، اتانولی و متانولی علیه هشت گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی شامل *Rhizoctonia solani*، *R. oryzae-sativa*، *Sclerotium rolfsii*، *Macrophomina phaseolina*، *Fusarium solani*، *Sclerotinia sclerotiorum*، *F. oxysporum* و *F. sporotrichioides* انجام شد. عصاره‌های چای سبز، با استفاده از روش اختلاط عصاره در محیط کشت PDA در غلظت‌های ۱۰ppm، ۱۰۰ppm و ۱۰۰۰ppm تهیه شدند. نتایج آزمون‌های عصاره چای سبز نشان داد، عصاره آبی چای بیشترین تأثیر بازدارندگی از رشد رویشی را روی قارچ *M. phaseolina* در سطح ظرف پتری در غلظت‌های ۱۰۰ppm و ۱۰۰۰ppm به ترتیب با ۳۵/۲٪ و ۴۶/۷۵٪ و *S. sclerotiorum* در غلظت ۱۰۰۰ppm به میزان ۳۶/۱۱٪ داشت. عصاره متانولی نیز بیشترین تأثیر بازدارندگی از رشد قارچ را روی دو قارچ فوق‌الذکر در غلظت ۱۰۰۰ppm به ترتیب به میزان ۳۵/۱۲٪ و ۴۵٪ داشت. عصاره اتانولی بیشترین تأثیر بازدارندگی از رشد رویشی قارچ را روی طیف بیشتری از قارچ‌ها شامل ۵ جدایه قارچی *S. sclerotiorum*، *F. oxysporum*، *F. solani*، *F. sporotrichioides* و *M. phaseolina* به ترتیب به میزان ۴۱/۵٪، ۴۳/۶٪، ۴۴/۵٪، ۴۵/۱۶٪ و ۴۸/۶۶٪ بازدارندگی درون شیشه‌ای نشان داد. این نتایج نشان داد تأثیر عصاره چای سبز بر اساس حلال، غلظت و جدایه قارچی متفاوت می‌باشد.

واژگان کلیدی: عصاره، چای سبز، ضدقارچ، حلال آبی، *Camellia sinensis*

مقدمه

چای *Camellia sinensis* یکی از رایج‌ترین و مهم‌ترین نوشیدنی‌های مطبوع و مورد مصرف جهان به‌ویژه ایران است. اثرات دارویی چای مربوط به دو ترکیب کافئین و پلی‌فنل‌ها می‌باشد (Nataro, 2006؛ وکیلی، ۱۳۸۳؛ فرهادی، ۱۳۷۸؛ سراجی، ۱۳۸۶). روش مدیریت شیمیایی از یک سو به دلیل تأثیرات کوتاه مدت و سریع، و از سوی دیگر، کاربرد آسان آنها، سبب گرایش کشاورزان به استفاده از این روش در کنترل عوامل خسارت‌زای کشاورزی شده است (Brewer and Larkin, 2005). بروز برخی مشکلات ناشی از مصرف سموم شیمیایی و افزایش آگاهی نسبت به اثرات سمی این مواد در محصولات، مصرف‌کنندگان و محیط زیست که در نتیجه باقیمانده سموم کشاورزی و ایجاد آلودگی در آن‌ها دیده می‌شود، موجب اهمیت فرآورده‌های طبیعی به خاطر تجزیه سریع و آسان و عدم ایجاد مسمومیت برای مصرف‌کنندگان و یا عدم ایجاد بیمارگر و آفات مقاوم شده است، این موارد موجب شده کشاورزان گرایش بیشتری به

۱- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی 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

doi: 10.30495/PLANT.2023.704200

استفاده از مواد بیولوژیکی در کنترل آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز داشته باشند (Sikora and Hoffman, 1992).

در سالیان اخیر خصوصیات ضدقارچی و ضدمیکروبی بسیاری از عصاره‌های گیاهی اثبات شده است. گیاهان طیف وسیعی از ترکیبات طبیعی با وزن مولکولی پایین تولید می‌کنند که این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان راهکار مؤثر جهت کنترل بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرند. ترکیباتی نظیر پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها و کومارین‌ها نقش مهمی در تأثیر عصاره گیاهان بر رشد میکروارگانیسم‌ها دارند (Savoia, 2012). در خصوص به‌کارگیری ترکیبات مستخرج از گیاهان با خواص ضدقارچی به منظور کنترل بیماری‌های قارچی گیاهان، تحقیقات متعددی انجام شده است (Suleiman, 2011; Lee *et al*., 2007). برگ سبز چای حاوی ترکیبات پلی‌فنلی، نظیر تئافلاوین و تئاروبیجین با اثرات ضدمیکروبی است. 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 و متراکم شده دیمر تئافلاوین و پلیمر Proanthocyanidin 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). تحقیقات نشان داده که اثر مهارکننده چای مستقیماً به توان آنتی‌اکسیدانی آن مربوط بوده و همچنین پلی‌فنل‌های چای در شرایط خاص با تولید پراکسیدهیدروژن به‌صورت پراکسیدان عمل کرده و از این طریق، اثر مهارکننده خود را بر رشد باکتری‌ها اعمال می‌کنند (Sugita *et al*., 1999).

بررسی‌های انجام شده نشان داده عصاره چای حاوی کاتچین‌هایی است که اثرات ضدقارچی و قارچکشی بر علیه ترایکوفیتون (Trichophyton) دارند. علاوه بر این ترکیبات پلی‌فنلی (کاتچین‌ها)، سایر ترکیبات موجود در چای هم مانند کرستین (Quercetin)، کامفرول (Kaemfrol) و میرستین (Myricetin) فعالیت بازدارندگی علیه باکتری‌های گرم مثبت و قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی نشان داده‌اند (Hamilton, 2001). با توجه به عدم مطالعه بر روی اثرات بازدارندگی عصاره‌های چای بر عوامل بیماری‌زای قارچی گیاهان در ایران، این پژوهش با هدف بررسی اثر بازدارندگی عصاره چای سبز با استفاده از سه حلال آبی، اتانولی و متانولی بر قارچ‌های مهم بیماری‌زای گیاهی و تعیین مؤثرترین غلظت هر یک از این حلال‌ها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و نگهداری جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر

قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی به‌صورت شناخته شده از آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحدهای رشت و اراک تهیه شد. جدایه‌های خالص شده در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت PDA رشد داده شدند و بعد از رشد به میزان کافی، در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس برای مطالعات بعدی نگهداری شدند (رهاننده و همکاران، ۱۳۸۵). قارچ‌های بیمارگر استفاده شده و میزبان‌های آن‌ها عبارت بودند از قارچ *Fusarium oxysporum* از میزبان گوجه‌فرنگی، قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* از میزبان توت، قارچ‌های *Rhizoctinia solani* و *R. oryzae-sativa* از میزبان برنج، *Sclerotium rolfsii* از میزبان بادام‌زمینی، قارچ‌های *Fusarium solani* از میزبان سیب‌زمینی؛ *Macrophomina phaseolina* از میزبان به‌لیمو و *Fusarium sporotrichioides* از میزبان گندم.

تهیه برگ سبز چای

برگ سبز چای در فصل بهار از باغات واقع در مرکز تحقیقات چای از کلون ۱۰۰ جمع‌آوری شد. به منظور غیرفعال کردن آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، برگ‌های جمع‌آوری شده بلافاصله در آون و دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت

قرار گرفت. برگ‌های سبز خشک شده به منظور یکنواختی بیشتر آسیاب شدند. نمونه‌های برگ سبز، برای جلوگیری از تأثیر رطوبت تا پایان مراحل مختلف آزمایش، در ظرف‌های در بسته نگهداری شدند (Okubo, 1991).

آماده‌سازی عصاره اتانولی برگ سبز چای

در این تحقیق از روش پرکولاسیون با الکل اتانول ۷۰٪ استفاده شد. ابتدا ۱۰ گرم از هر نمونه چای به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ به ارلن مایرهای مختلف منتقل گردید. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۶۰ درجه سلسیوس، مخلوط حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره دو عبور داده شد. پس از تصفیه عصاره‌های به‌دست آمده با دستگاه تبخیرکننده تغلیظ شد تا حجم هر کدام از آنها به ۲ میلی‌لیتر برسد (Chou and Chung, 1999).

آماده‌سازی عصاره آبی برگ سبز چای

ابتدا ۱۰ گرم از هر نمونه چای به ارلن‌مایرهای مختلف محتوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل وارد و به مدت ۵ دقیقه روی شعله حرارت داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره دو، تفاله‌های چای از نمونه‌ها جدا گردید. مایع حاصل از نمونه‌های چای به‌عنوان عصاره آبی چای، درون لوله‌های آزمایش نگهداری گردید (Porter, 1999).

آماده‌سازی عصاره متانولی برگ سبز چای

درون ارلن‌مایرهای مختلف، ۱۰ گرم از هر نمونه چای با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ مخلوط گردید. سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار داده شد؛ طی این مدت، ظرف ارلن‌مایر حاوی مخلوط چندین بار با استفاده از شیکر، تکان داده شد. محتویات ارلن از یک لایه کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد. پس از عصاره‌گیری، با روش تقطیر در خلاء و با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس حلال از عصاره جدا شد و به این ترتیب عصاره غلیظ به‌دست آمد (عطایی عظیمی و همکاران، ۱۳۸۵).

بررسی اثرات ضدقارچی عصاره‌های چای به روش اختلاط با محیط کشت

ابتدا غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره در لیتر (پی‌پی‌ام) در محیط کشت مایع PDA تهیه شد. پس از کشت قارچ و نگهداری به مدت ۵ روز در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، میزان رشد شعاعی هر قارچ اندازه‌گیری شد (Teniola *et al*., 2005 ؛Fakoori *et al*., 2020).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل و آنالیز واریانس داده‌های به‌دست آمده، با نرم‌افزار SAS نسخهٔ ۹/۴ انجام شد. مقایسات میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج

میزان بازدارندگی عصاره آبی چای علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیشترین تأثیر عصاره آبی چای در بازداری از رشد ریسه‌ای قارچ‌ها در غلظت ۱۰۰۰ppm روی دو قارچ *M. phaseolina* و *R. solani* به ترتیب با ۴۶/۸۵٪ و ۳۶/۱۱٪ نشان دادند. در غلظت ۱۰۰ppm بیشترین میزان بازداری روی دو قارچ *M. phaseolina* و *R. solani* به ترتیب با ۳۵/۲٪ و ۱۹/۲۶٪ به‌دست آمد. در غلظت ۱۰ppm عصاره آبی چای روی قارچ *M. phaseolina* به میزان ۲۸/۷٪ باعث بازداری از رشد ریسه‌ای قارچ شد. این عصاره روی دو قارچ *F. oxysporum* و *R. solani* هیچ‌گونه تأثیر بازدارندگی نداشت (جدول ۱).

میزان بازدارندگی عصاره اتانولی چای علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

عصاره حاصل از حلال اتانولی در غلظت ۱۰۰۰ppm موجب بازدارندگی از رشد رویشی پنج گونه قارچ *M. phaseolina*، *F. sporotrichioides*، *R. solani*، *F. oxysporum* و *S. sclerotiorum* به ترتیب به میزان ۴۸/۶٪، ۴۵/۶۶٪، ۴۴/۵٪، ۴۳/۱۶٪ و ۴۱/۵٪ گردید. در غلظت ۱۰۰ppm بیشترین قدرت بازدارندگی رشد رویشی قارچ *F. sporotrichioides* به میزان ۴۴/۵٪ دیده شد و بعد از آن روی *M. phaseolina* و *F. oxysporum* به ترتیب با ۳۱/۱۶٪ و ۳۳/۳۳٪ بازدارندگی نشان داد. عصاره اتانولی روی دو قارچ *Sclrotium rolfsii* و *Rhizoctonia orizea-sativa* هیچ‌گونه تأثیر بازدارندگی از رشد رویشی نداشتند (جدول۲).

جدول ۱- درصد تأثیر عصاره آبی چای بر قارچ‌های بیماری‌زا *F. oxysporum*، *F. solani*، *F. sporotrichioides*، *M. phaseolina*، *R. orizae-sativa*، *R. solani*، *S. sclerotiorum* و *S. rolfsii*

Table 1. The effect percentage of aqueous tea extract on pathogenic fungi *F. oxysporum, F. solani, F. sporotrichioides, M. phaseolina, R. orizae-sativa, R. solani, S. sclerotiorum* and *S. rolfsii*

Growth Inhibition Percentage						درصد بازدارندگی رشد		غلظت Concentration
Sclrotium rolfsii	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Rhizoctonia solani*	*Rhizoctonia orizea-sativa*	*Macrophomina phaseolina*	*Fusarium sporotrichioides*	*Fusarium solani*	*Fusarium oxysporum*	
0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	شاهد Control
2.83^{D}	36.11^{A}	0.5^{E}	0^{E}	46.85^{A}	23.62^{B}	0.87^{E}	0^{E}	۱۰۰۰ppm
1.58^{E}	19.26^{B}	0.5^{E}	0^{E}	35.2^{A}	11.5^{C}	0.5^{E}	0^{E}	۱۰۰ppm
0.65^{E}	3.33^{D}	0^{E}	0^{E}	28.7^{B}	1.125^{E}	0^{E}	0^{E}	۱۰ppm

هر میانگین با سه تکرار انجام شده، بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Each average is done with three repetitions, according to the Duncan test, means with the same letters do not have a significant difference at the 1% probability level

جدول ۲- تأثیر عصاره اتانولی چای بر قارچ‌های *F. oxysporum*، *F. solani*، *F. sporotrichioides*، *M. phaseolina*، *R. orizae-sativa*، *R. solani*، *S. sclerotiorum* و *S. rolfsii*

Table 2. The effect of ethanol extract of tea on pathogenic fungi *F. oxysporum, F. solani, F. sporotrichioides, M. phaseolina, R. orizae-sativa, R. solani, S. sclerotiorum* and *S. rolfsii*

Growth Inhibition Percentage						درصد بازدارندگی رشد		غلظت Concentration
Sclrotium rolfsii	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Rhizoctonia solani*	*Rhizoctonia orizea-sativa*	*Macrophomina phaseolina*	*Fusarium sporotrichioides*	*Fusarium solani*	*Fusarium oxysporum*	
0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	شاهد Control
0^{E}	41.5^{A}	44.5^{A}	0^{E}	48.65^{A}	45.66^{A}	0.66^{E}	43.16^{A}	۱۰۰۰ppm
0^{E}	10^{C}	2.5^{D}	0^{E}	31.16^{B}	44.5^{A}	0^{E}	33.33^{B}	۱۰۰ppm
0^{E}	1.66^{E}	0^{E}	0^{E}	4.5^{D}	32.125^{B}	0^{E}	0^{E}	۱۰ppm

هر میانگین با سه تکرار انجام شده، بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری ندارند.

Each average is done with three repetitions, according to the Duncan test, means with the same letters do not have a significant difference at the 1% probability level

میزان بازدارندگی عصاره متانولی چای علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

عصاره حاصل از حلال متانولی بیشترین بازداری از رشد رویشی قارچ را در غلظت ۱۰۰۰ppm روی دو قارچ *M. phaseolina* و *S. sclerotiorum* به ترتیب به میزان ۴۵٪ و ۳۵/۱۲٪ داشت. در غلظت ۱۰۰ppm بیشترین میزان

بازدارندگی از رشد رویشی قارچ، *M. phaseolina* به میزان ۲۷/۳۷٪ دیده شد. عصاره حاصل از حلال متانولی روی قارچ‌های *Fusarium solani*، *Fusarium sporotrichioides*، *Rhizoctonia orizea-sativa* و *Sclrotium rolfsii* بی‌تأثیر بود (جدول۳).

جدول۳- تأثیر عصاره متانـولی چای بر قارچ‌های بیماری‌زا *F. oxysporum*، *F. solani*، *F. sporotrichioides*، *M. phaseolina*، *R. orizae-sativa*، *R. solani*، *S. sclerotiorum*، *S. rolfsii*

Table 3. The effect of methanol extract of tea on pathogenic fungi *F. oxysporum, F. solani, F. sporotrichioides, M. phaseolina, R. orizae-sativa, R. solani, S. sclerotiorum, S. rolfsii*

Growth Inhibition Percentage						درصد بازدارندگی رشد		غلظت Concentration
Sclrotium rolfsii	*Sclerotinia sclerotiorum*	*Rhizoctonia solani*	*Rhizoctonia orizea-sativa*	*Macrophomina phaseolina*	*Fusarium sporotrichioides*	*Fusarium solani*	*Fusarium oxysporum*	
0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	شاهد Control
0^{E}	35.12^{A}	20.83^{B}	0.66^{E}	45^{A}	0.87^{E}	0^{E}	11.16^{C}	۱۰۰۰ppm
0^{E}	4.37^{D}	3.33^{E}	0^{E}	27.37^{B}	0^{E}	0^{E}	1.33^{E}	۱۰۰ppm
0^{E}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	17.37^{C}	0^{E}	0^{E}	0^{E}	۱۰ppm

هر میانگین با سه تکرار انجام شده، بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری ندارند.

Each average is done with three repetitions, according to the Duncan test, means with the same letters do not have a significant difference at the 1% probability level

بحث

کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی، یکی از چالش‌های مهم در کشاورزی بوده و بیماری‌هایی که به‌وسیله قارچ‌ها در سیستم کشاورزی ایجاد می‌شود، اهمیت بسیاری دارند (Azaddysfani *et al.*, 2011). سال‌ها برای کنترل قارچ‌ها تأکید بر استفاده از قارچکش‌های شیمیایی و استفاده از ارقام مقاوم بوده است. نظر به تأثیرات سوء سموم شیمیایی بر سلامت انسان، جانوران، گیاهان، محیط زیست، ایجاد جهش در عوامل بیماری‌زا و مقاومت آنها به سموم مختلف و هزینه‌های سنگین تولید نژادهای مقاوم جدید، ادامه روند استفاده از این سموم مورد تردید است (صیاد و همکاران، ۱۳۹۱). از این‌رو، امروزه استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک و مواد طبیعی مؤثره گیاهان بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. تاکنون تحقیقات متعددی بر نحوه عملکرد عصاره گیاهان مختلف با ترکیبات مؤثر ضدقارچی، صورت گرفته است، که عملکرد ضدعامل بیماری متفاوتی را نشان داده‌اند (Suleiman, 2011 ؛Lee *et al*., 2007). آب به‌عنوان یک حلال قطبی برای استخراج ترکیبات قطبی از بافت گیاهی بسیار مناسب است (Isogai *et al*., 2001). در مطالعه حاضر عصاره آبی توانست در غلظت ۱۰۰۰ppm از رشد رویشی سه قـارچ *F. sporotrichioides*، *M. phaseolina* و *S. sclerotiorum* جلوگیـری نمـاید. عصـاره آبـی چـای روی *R. solani* تأثیر ناچیز داشت و روی *F. oxysporum* و *Rhizoctonia orizea-sativa* کاملاً بی‌تأثیر بود. در تحقیقی با بررسی خواص ضدقارچی ده گونه گیاهی روی عامل ساق زخم توتون، گزارش شد که چهار گونه گیاهی حنا، فلفل، شمعدانی و گونه *Polyalthia longifolia* به‌خوبی قارچ عامل بیماری *R. solani* را کنترل کردند (Poonam *et al*., 2021). عصاره چای روی عـوامـل بیمـاری‌زای بـرنـج هـمانند: *A. flavus*، *B. oryzae*، *F. proliferatum*، *F. moniliforme*، *A. brassicicola*، *P. arisea* و *R. solani* تأثیرگذار بود (Pitipong *et al*., 2009). در تحقیق حاضر عصاره‌های اتـانـولی و متانولی روی قارچ *R. solani* تأثیر کنترل‌کنندگی بسیار مناسبی داشتند. ار آنجا که حساسیت گونه‌های قارچی بسته به نوع عصاره و غلظت آن‌ها متفاوت است، لذا می‌توان این‌طور بیان نمود که تفاوت در فعالیت ضدقارچی عصاره‌هـای گـیـاهی به اجـزای تشـکیل‌دهنده آن‌ها بستگی دارد. به‌طوری‌که یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت تشدیدکننده همراه با سایر ترکیبات، موجب فعالیت ضدقارچی عصاره‌ها گردد. نکته قابل تأمل تأثیر ضدقارچی تمامی غلظت‌های عصاره‌های آبی،

اتانولی و متانولی چای سبز (*C. sinensis*) علیه قارچ عامل بیماری ساق سیاه بهلیمو *Macrophomina phaseolina* بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت قارچ *M. phaseolina* به حداقل یکی از ترکیبات موجود در عصاره چای سبز بسیار حساس است و عصاره این گیاه به‌طور بالقوه توانایی کنترل بیماری‌های ناشی از این قارچ مانند مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه و ساقه، ساق‌سیاه در میزبان‌های متعدد را دارد؛ به‌طوری‌که عصاره آبی چای سبز حتی در غلظت ۱۰ppm توانست تا ۲۸/۷ درصد از رشد قارچ *M. phaseolina* بکاهد. قارچ *M. phaseolina* یک قارچ خاکزاد معمول است و در سراسر دنیا گسترش دارد و میزبان‌های بسیاری در میان گیاهان زراعی دارد و به ریشه و پایین ساقه بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی حمله می‌کند (Wyllie, 1988). این قارچ در شرایط دمای بالا (۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس) و رطوبت نسبی کم (کمتر از ۶۰٪) موجب خسارت وکاهش عملکرد محصولاتی چون سویا، سورگوم و بادام‌زمینی می‌گردد (Marquez *et al*., 2021). برعکس هیچکدام از غلظت‌های عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی چای سبز (*C. sinensis*) نتوانستند اثر بازدارندگی از رشد در قارچ *Rhizoctonia orizea-sativa* عامل بیماری سوختگی و لکه‌موجی غلاف برگ برنج و قارچ *F. solani* عامل پژمردگی آوندی در گیاهان متعدد، داشته باشند؛ بنابراین، عصاره‌های چای سبز فاقد قابلیت کنترل این بیماری‌ها هستند. بدیهی است که با توجه به تنوع قارچ‌های مورد مطالعه، ماهیت ساز وکارهای دفاعی آن‌ها نیز متفاوت بوده و در نتیجه می‌توان انتظار داشت که آستانه تأثیرپذیری هر قارچ نسبت به مواد ضدقارچی و شیب تغییرات رشد نسبت به مقدار ماده مؤثره متفاوت باشد (Yang *et al*., 2017). میزان تأثیرگذاری عصاره چای روی قارچ‌های مختلف کاملاً وابسته به حلال آن می‌باشد (Yildirim *et al*., 2010). در تحقیق حاضر نیز حلال‌ها و غلظت‌های مختلف چای تأثیرات مختلفی روی قارچ‌های مورد بررسی داشتند. در تحقیقی نشان داده شد که عصاره‌های اتانولی و متانولی چای سبز روی قارچ‌ها توانایی بازدارندگی دارند و میزان بازداری در حلال‌های مختلف متفاوت می‌باشد و با افزایش غلظت، میزان بازداری معمولاً افزایش می‌یابد (Thirumalairaj *et al*., 2021). عصاره اتانولی چای سبز علاوه بر قارچ *M. phaseolina* توانست به‌طور معنی‌داری مانع از رشد قارچ‌های *F. oxysporum*، *F. sporotrichioides*، *R. solani* و *S. sclerotiorum* در شرایط درون شیشه‌ای گردد که شاخص‌ترین آنها در غلظت ۱۰ppm در مورد قارچ *F. sporotrichioides* بود که توانست به میزان ۳۲/۱۲۵ درصد مانع از رشد این قارچ درون پتری گردد که نشان‌دهنده توانایی بالقوه عصاره اتانولی چای سبز در کنترل بیماری‌های بلایت فوزاریومی سنبله گندم و جو و پوسیدگی خوشه ذرت است. عصاره متانولی چای سبز نسبت به سایر عصاره‌های مورد استفاده عملکرد ضعیف‌تری نشان داد؛ به‌طوری‌که صرفاً غلظت ۱۰۰۰ppm آن قدرت بازدارندگی قابل قبولی به ترتیب در چهار گونه قارچ *M. phaseolina* (۴۵٪)، *S. sclerotiorum* (۳۵/۱۲٪)، *R. solani* (۲۰/۸۳٪) و *F. oxysporum* (۱۱/۱۶٪) داشت. بنابر غلظت مورد استفاده نمی‌توان در شرایط مزرعه از این عصاره برای کنترل بیماری مرتبط با قارچ‌های مذکور بهره برد. عصاره اتانولی چای سبز نسبت به دو عصاره دیگر از نظر میزان بازداری از رشد شعاعی قارچ در شرایط درون شیشه‌ای کارایی بیشتری داشت و بر اساس افزایش غلظت میزان بازداری نیز در تمامی عصاره‌ها افزایش پیدا می‌کرد که در راستای نتایج تحقیقات پیش از این بوده است. بر اساس نتایج حاصل به نظر می‌رسد عصاره حاصل از چای سبز می‌تواند به تنهایی و یا همراه با ترکیبات دیگر به‌عنوان جایگزین سموم کشاورزی در خصوص مدیریت برخی از بیماری‌های گیاهی مورد بررسی بیشتری قرار گیرد.

منابع References

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): ۲۲۳-۲۳۲.

سراجی، ع. ۱۳۸۶. مطالعه زیست‌شناسی و دینامیک جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) در ایران و امکان ارزیابی خسارت آن با استفاده از مدل‌های اپیدمیولوژیک. رساله دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

صیاد، س.، حسن‌زاده، ن.، قاسمی، ا. و ناظریان، ع. ۱۳۹۱. کنترل عامل بیماری پوسیدگی نرم گیاه زینتی سینگونیوم (*Pectobacterium carotovorum*) با استفاده از اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها در دو سطح آزمایشگاه و گلخانه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸(۴): ۷۴۰-۷۳۰.

عطایی عظیمی، ع.، دلنواز هاشملویان، ب. و منصور غنایی، ع. ۱۳۸۵. اثر ضدقارچی عصاره‌های آبی، الکلی و فنلی دانه و برگ سورگوم بیکالر *Sorghum bicolor* (L.) Moench بر فوزاریوم سولانی و فوزاریوم پوآ. فصلنامه گیاهان دارویی ۶ (S_3): ۳۲-۲۶.

فرهادی، د. و. ۱۳۷۸. اثرات چای در پیشگیری و درمان بیماری‌ها. اولین همایش بین‌المللی چای، تهران.

وکیلی، د. ۱۳۸۳. چای (با نگرش علمی وتحلیلی). انتشارات موثقی، تهران. ۲۱۶ صفحه.

Azaddysfani, F., Rohani, H., Falahati Rastgar, M. and Mehdikhani magdom, A. 2011. Cotton immune responses to *Trichoderma* species and its effect on the control of damping off caused by *Rhizoctonia solani*. Plant Protection 27: 1-10.

Brewer, M. T. and Larkin, R. P. 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. Crop Protection 24: 939–950.

Chou, C. L. and Chung, K. T. 1999. Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. International Journal Food Microbiology 48: 125-130.

Fakoori, H., Rafiei karahroudi, Z. and Sedaghatfar, E. 2020. Insecticide effect of rosmary and lavander essential oils on adult stage of *Callosobruchus maculatus*. Bioagrica 1 (1): 1-9.

Hamilton, J. M. T. 2001. Anticarciogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). Journal of Medical Microbiology 50(4): 299-302.

Isogai, E., Isogai, H., Hirose, K., Hayashi, K., Hayashi, S. and Qguma, K. 2001. In vivo synergy between green tea and extract and levofloxacin against enter hemorrhagic *Escherichia coli* 0157 infection. Current Microbiology 42: 248-51.

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.

Marquez, N., Giachero M. L., Declerck S. and Ducasse D.A. 2021. *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control. Frontiers in Plant Science. 12: 634397. doi: 10.3389/fpls.2021.634397.

Nataro, J. P. 2006. A typical enteropathogenic *Escherichia coli:* Typical pathogens? Emerging Infectious Disease 12(4): 60-69.

Okubo, S. 1991. Antifungal and Fungicidal activities of tea extracts and catechin against Tricophython. Nihon Saikingaku Zasshi 46(2): 509-514 (in Japanese).

Pitipong, T., Jularat**, U., Apinya, P. and Phirayot, K. 2009.** Screening for the antifungal activity of essential oils from Bergamot oil (*Citrus hystrix* DC.) and tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) against economically rice pathogenic fungi: A Driving force of organic rice cv. KDML 105 Production. Asian Journal of Food and Agriculture-Industry; Special Issue, S374-S380.

Poonam, M., Tripta, J. and Kanika, S. 2021. Antifungal activity of leaf extracts of *polyalthia longifolia* (sonn.) Benth. and Hook. against *Rhizoctonia solani.* Plant Archives 21: 1366-1371.

Porter, N. 1999. The Tea Plant. A publication of the southern Illinois university herbarium. Pp. 265-278.

Savoia, D. 2012. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. Future Microbiology 7(8): 979-990.

Sikora, R. A. and Hoffman, H. S. 1992. Importance of plant health – promoting Rhizobacteria for the control of soil – borne fungal disease and plant parasitic nematodes. Arabian Journal of Plant Protection 10: 48-53.

Sugita, K., Amana, F., Okubot, A. and Iwaki, M. 1999. Epigallocatechin gallate and gallocatechin gallate in green tea catechins inhabit extra cellular release of Vero toxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli*. 0157: 117. Biochimica et Biophysica Acta 1472(1-2): 42-50.

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.

Teniola, O. D., Addo, P. A., Brost, I. M., Färber, P., Jany, K. D., Alberts, J. F., van Zyl, W. H., Steyn, P. S. and Holzapfel, W. H. 2005. Degradation of aflatoxin B1 by cell-free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov. DSM44556T. International Journal of Food Microbiology 105: 111-117.

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.

Wyllie, T. D. 1988. Charcoal rot of soybean-current status. In: Wylie, T. D. and Scott, D. H. (eds.) Soybean Diseases of the North Central Region. APS Press, St. Paul, MN.

Yang, Y. H., Chen, Y. J., Chen, F. J., Yu, Y. and Bi, C. W. 2017. Tea polyphenol is a potential antifungal agent for the control of obligate biotrophic fungus in plants. Journal of Phytopathology 165: 547–553.

Yildirim, N., Bekler, F., Matpan, Y., Cikcikoglu, N. and Dikici, A. 2010. In vitro antimicrobial evaluation of commercial tea extracts against some pathogen fungi and bacteria. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures (DJNB) 5(4): 821-827.

Investigating the antifungal effect of green tea extract against eight plant pathogenic fungi

H. Rahanandeh[1*] and E. Sedaghatfar[2]

Received: 3 Oct., 2022 Accepted: 30 Dec., 2022

ABSTRACT

In recent years, due to the indiscriminate use of chemical methods and pathogens becoming resistant to them, the use of medicinal plants to inhibit their activity has flourished. This study was conducted during 1996-94. The aim of this study is to investigate the antifungal effect of green tea extract (*Camellia sinensis*) using water, ethanol and methanol solvents against eight species of plant pathogenic fungi including *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae-sativa*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *F. oxysporum* and *F. sporotrichioides* were implemented. First, green tea extract was prepared. Then, using the extract mixing method, they were added in PDA culture medium at concentrations of 1000 ppm, 100 ppm and 10 ppm. Aqueous tea extract had the greatest effect on *M. phaseolina* fungi at concentrations of 1000 ppm and 100 ppm with 46.75% and 35.2%, respectively; *S. sclerotiorum* at 1000 ppm concentration by 36.11%. Methanolic extract also had the greatest effect on the above two fungi at a concentration of 1000 ppm, 45% and 35.12%, respectively. Ethanol extract showed the greatest effect on a wider range of fungi. This extract on 5 fungal isolates *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides*, *M. phaseolina*, *F. solani* and *S. sclerotiorum* respectively 43.6%, 45.16%, 48.66%, 44.5% and 41.5% inhibited the growth of fungi on the surface of the Petri dish. These results showed that the effect of green tea extract is different based on the solvent, concentration and fungal isolate.

Key words: Extract, green tea, antifungal, aqueous solvent, *Camellia sinensis*

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
doi: 10.30495/PLANT.2023.704200