بررسی اثر ضدقارچی و ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه چای ترش

فاطمه کریمی ایرج[۱]، حجت اله بداقی[۲]* و شیده موجرلو[۲]*

[۱]دانشجوکارشناسی ارشد (گروه باغبانی و گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود)

[۲]استادیار (گروه باغبانی و گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود)

*نویسنده مسئول: h.bodaghi@yahoo.com – Shideh.mojerlou@shahroodut.ac.ir

چکیده

چای ترش گیاهی از خانواده ختمی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و موثر در درمان بسیاری از بیماری‌ها است. در مطالعه حاضر تأثیر عصاره اتانولی چای ترش بر بیمارگرهای قارچی و باکتریایی گیاهان در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. رقت‌های پنج، ده و ۱۵ درصد عصاره اتانولی به محیط کشت عصاره سیب زمینی- دکستروز- آگار و نوترینت آگار اضافه شد و بازدارندگی از رشد به ترتیب هفت روز و ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از کشت برای بیمارگرهای قارچی و باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. محیط کشت بدون عصاره به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد عصاره اتانولی چای ترش مهارکننده خوبی برای باکتری‌های گرم مثبت و منفی (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*، *Xanthomonas* sp. و *Rathayibacter tritici*) و قارچ‌های (*Fusarium solani*، *F. graminearum* و *Botrytis cinerea*) بود. غلظت پنج درصد عصاره به طور ۱۰۰ درصد در هر سه باکتری بازدارندگی نشان داد و برای قارچ‌ها نیز غلظت پنج درصد عصاره اتانولی در بیمارگر *F. solani* و غلظت ده درصد در هر سه بیمارگر قارچی به طور کامل از رشد میسلیومی جلوگیری به عمل آورد. نتایج این پژوهش اثرات مثبت کاربرد عصاره‌های گیاهی در کنترل آلودگی‌های قارچی و باکتریایی را تأیید می‌نماید. هم‌چنین این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی گیاه چای ترش قادر است رشد قارچ‌ها و باکتری‌های مهم بیماریزای گیاهی را در شرایط آزمایشگاهی کنترل نماید.

واژه‌های کلیدی: بیمارگرهای گیاهی، خاصیت ضدمیکروبی، عصاره اتانولی، Hibiscus tea

مقدمه

چای ترش با نام علمی *Hibiscus sabdariffa* L. از خانواده ختمی و بومی آفریقاست. در ایران به نام‌های چای مکی، چای قرمز و چای ترش نیز شناخته می‌شود (Abdul Jaleel *et al.*, 2007). چای ترش به طور گسترده در مناطق حاره‌ای کشت می‌شود و گلبرگ آن به عنوان نوشیدنی و رنگ خوراکی کاربرد دارد. برای پیشگیری و درمان سنگ‌های کلیوی و مثانه در طب سنتی، هم‌چنین به عنوان ضدباکتری، ضد قارچ و کاهنده فشارخون استفاده می‌شود (D'Heureux *et al.*, 2004). یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های گیاهان دارویی، عصاره آنها است. عصاره که حاوی انواع مولکول‌های فرار، شامل ترپنوئیدها و ترکیبات آروماتیک و آلیفاتیک می‌باشد، از اندام‌های مختلف گیاهی از جمله برگ‌ها، میوه، ریشه و ... گیاه به دست می‌آید (Anthony *et al.*, 2011). ترکیبات طبیعی بدست آمده از عصاره گیاهان دارویی به طور گسترده‌ای دارای عوامل ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و ... هستند (Tajkarimi *et al.*, 2010).

عصاره الکلی گیاه چای ترش می‌تواند به طور مؤثری از رشد باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Salmonella enterica*، *Bacillus cereus* و *Escherichia coli* جلوگیری نماید (Katalinic *et al.*, 2006). نتایج یک بررسی نشان داد که عصاره اتانولی چای ترش مهارکننده قوی باکتری‌های *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* است (Kamali *et al.*, 2006). در پژوهشی جوادیان و همکاران (۱۳۹۳) دریافتند که عصاره اتانولی چای ترش اثر بازدارندگی خوبی روی عامل باکتریایی *Klebsiella pneumoniae* دارد که ناشی از وجود مواد مؤثر در آن است. عصاره الکلی گیاهان علف چای و چای ترش فعالیت ضدباکتریایی خود را از طریق آسیب به غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم‌ها اعمال می‌کنند. در پژوهشی رشیدی و همکاران

(۱۳۹۷) دریافتند که عصاره اتانولی چای ترش از توان آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی خیلی خوبی برخوردار است، بنابراین می‌توان از آن در صنایع غذایی و دارویی بهره جست. مطالعات تیموثی و همکاران نیز نشان داد که عصاره آبی چای ترش مهارکننده باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Klebsiella* و *Pseudomonas* در غلظت‌های ۱۰-۱۶میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (Timothy *et al.*, 2008).

تأثیر عصاره‌های گیاهی مختلف بر بیمارگرهای گیاهی به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. برای مثال عصاره دارچین، آویشن و میخک دارای اثرات ضدقارچی هستند و سبب بازدارندگی از رشد قارچ *Fusarium* می‌شوند (Cosic *et al.*, 2010). عصاره گونه‌های مختلف گیاه داتوره بر رشد قارچ *Fusarium solani* و *Alernaria solani* اثر بازدارندگی دارد (Jalander and Gachande, 2012). درتحقیقی دیگر اثر عصاره‌آبی، الکلی و فنلی دانه سورگوم بر قارچ *F. solani* و *F. Poa* گزارش گردید که عصاره فنولی ۱۰۰درصد مانع از رشد هر دو گونه فوزاریوم شد، همچنین اثر ضد قارچی عصاره علاوه بر غلظت، به نوع گونه قارچ نیز بستگی دارد (عظیمی و همکاران، ۲۰۰۷). عصاره‌های آبی، اتانولی و هگزانی اندام‌های مختلف گیاهان زیتون تلخ باعث کاهش رشد قارچ‌های *Aspergillus flavus*، *F. oxysporum* و *F. solani* می‌شود و خاصیت قارچ‌کشی میوه گیاه به مراتب بیشتر از برگ آن گز ارش شده است (Carpinella *et al.*, 2003). منصوری و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهشی دریافتند که مقدار باکتری‌های Coliform با استفاده از عصاره‌های گیاهی ۴۰ درصد چای سبز و آویشن خراسانی، در تیمار سبزی ریحان سبز به صفر می‌رسد.

ظهور پدیده مقاومت در قارچ‌های بیماریزای گیاهی نسبت به قارچ‌کش‌های شیمیائی، محدود بودن قارچ‌کش‌های شیمیایی و نیز آثار سوء و زیان‌بار آن‌ها در محیط زیست و بهداشت انسانی، تحقیق و پژوهش برای یافتن قارچ‌کش‌های طبیعی با عوارض جانبی کمتر، لازم و ضروری می‌نماید. با توجه به تاثیر به‌سزای عصاره‌های گیاهی در کنترل بیمارگرهای گیاهی، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر عصاره الکلی گیاه چای ترش بر برخی از بیمارگرهای مهم قارچی و باکتریایی گیاهان انجام شد.

مواد و روش‌ها

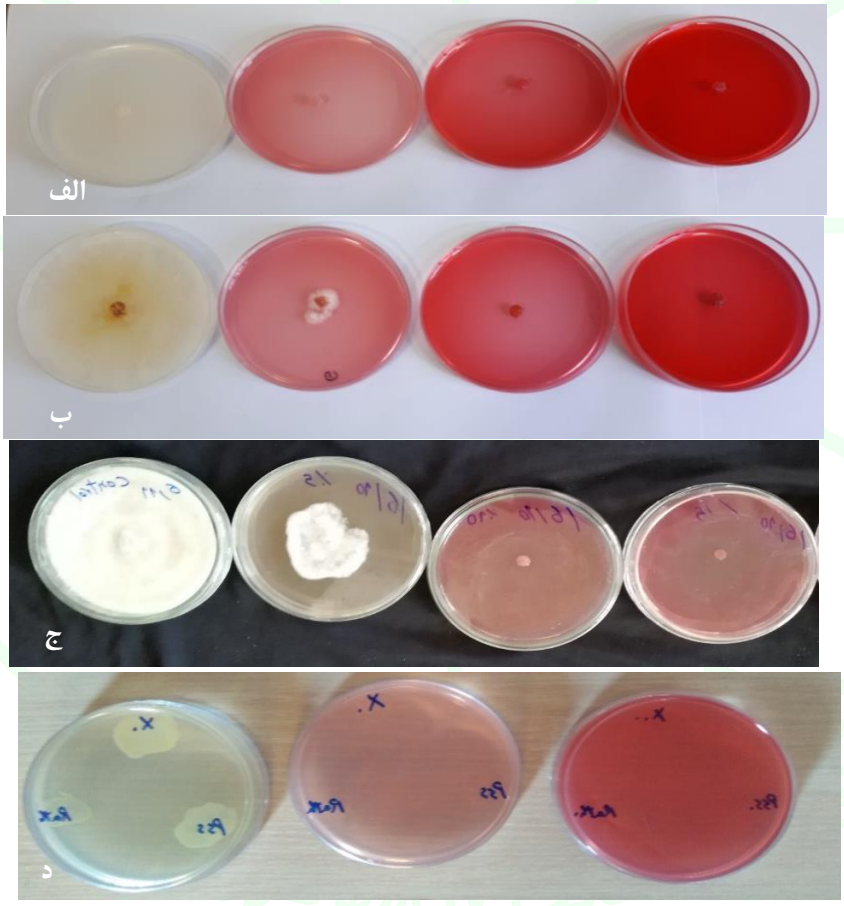
به منظور تهیه عصاره اتانولی مقدار پنج گرم از بافت آسیاب شده گیاه چای ترش در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی شیکر قرارداده شد. پس از این مدت به ۷۵ میلی‌لیتر از محلول فوق ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد و حجم آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس این محلول به مدت دو ساعت روی شیکر قرار داده شد. پس از آن محلول جهت تبخیر اتانول و استحصال عصاره در زیر هود قرارگرفت (Bahraminejad *et al.*, 2008a, b). عصاره باقی مانده اتانولی، فیلتر شد و رقت های پنج، ده و ۱۵ درصد به محیط کشت عصاره سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA) و Nutrient Agar (NA) اتوکلاو شده اضافه شد.

سه بیمارگر قارچی گیاهی *Botrytis cinerea*، *Fusarium graminearum* و *Fusarium solani* و سه بیمارگر باکتریایی *Xanthomonas sp.*، *Pseudomonas syringae pv. syringae (PSS)* و *Rathayibacter tritici* از آزمایشگاه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود تهیه شد. از کشت شش روزه قارچ دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر جدا نموده و بر روی محیط کشت‌های حاوی عصاره گیاهی و پتری PDA خالص به عنوان شاهد قرار داده شد و به مدت یک هفته در دمای ۲± ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شد. رشد شعاعی قارچ‌ها به فاصله هر دو روز ثبت شد و درصد ممانعت رشدی هریک از غلظت‌های عصاره با مقایسه نسبت به شاهد بدست آمد. از کشت ۲۴ ساعته ایزوله‌های باکتری نیز بصورت لکه‌ای روی محیط کشت NA حاوی رقت‌های مختلف عصاره کشت‌شد. سپس رشد یا عدم رشد باکتری روی محیط در مقایسه با شاهد تا ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. از محیط کشت بدون عصاره به عنوان شاهد استفاده شد. برای هر رقت عصاره در هر بیمارگر سه تکرار در نظر گرفته شد و آزمایش دو بار تکرار شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه وتحلیل قرارگرفت و مقایسه میانگین به روش دانکن انجام شد.

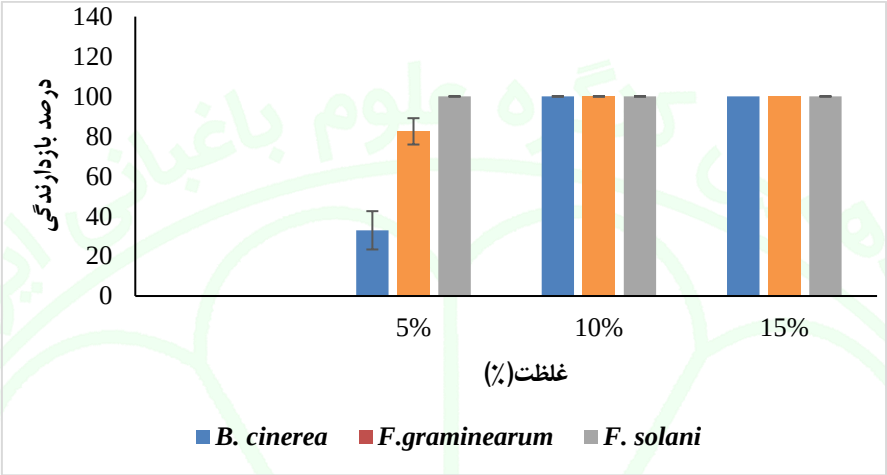
نتایج و بحث

در بررسی میزان بازدارندگی از رشد میسلیومی بیمارگرهای قارچی، میزان رشد میسلیومی هر دو روز ثبت شد. در پایان داده‌های هفت روز پس از کشت (پر شدن پتری شاهد) (شکل ۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان‌داد غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی در سطح یک درصد با هم اختلاف معنی‌دار دارند. غلظت پنج درصد از عصاره اتانولی چای ترش موجب بازداندگی کامل (۱۰۰ درصد) رشد بیمارگر *F. Solani* و غلظت ده درصد موجب بازدارندگی کامل دو بیمارگر *F. graminearum* و *B. cinerea* گردید (شکل ۲). بررسی نتایج مربوط به تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش بر بیمارگرهای باکتریایی نشان‌داد (جدول ۱، شکل ۱د)، غلظت پنج و ده درصد عصاره اتانولی چای ترش در هر سه بیمارگر موجب ممانعت از رشد گردید.

خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره چای ترش توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (جوادیان و همکاران، ۱۳۹۳؛ رشیدی و همکاران، ۱۳۹۷؛ Timothy *et al.*, 2008). با توجه به اثرات سوء شیمیایی بر محیط زیست و سلامتی انسان و همچنین هزینه سنگین تهیه ارقام مقاوم و سموم شیمیایی و همچنین ایجاد مقاومت در عوامل بیماریزا نسبت به سموم شیمیایی، استفاده از مواد با منشاء طبیعی مثل عصاره‌های طبیعی گیاهی در بیماری‌های گیاهی مناسب‌تر است. نتایج تحقیق حاضر نیز تاثیر مطلوب عصاره اتانولی چای ترش بر بیمارگرهای گیاهی قارچی و باکتریایی مورد بررسی را به خوبی نشان می‌دهد.



شکل ۱- بررسی بازدارندگی از رشد میسلیومی عصاره اتانولی گیاه چای ترش بر قارچ *Fusarium solani* (الف) *Fusarium graminearum* (ب) و *Botrytis cinerea* (ج) هفت روز پس از کشت. در شکل الف، ب و ج به ترتیب از چپ به راست غلظت‌های صفر، پنج، ده و ۱۵ درصد عصاره اتانولی مشاهده می شود. شکل د به ترتیب از چپ به راست شاهد و عدم رشد باکتری‌ها روی محیط پنج و ده درصد عصاره اتانولی را نشان می‌دهد.



شکل ۲- مقایسه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاه چای ترش بر سه قارچ *Botrytis cinerea*، *Fusarium graminearum* و *Fusarium solani* هفت روز پس از کشت.

جدول ۱- بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره چای ترش بر بیمارگرهای باکتریایی.

درصد عصاره اتانولی	*Xanthomonas* sp.	*PSS*	*Rathayibacter tritici*
صفر	+	+	+
۵	-	-	-
۱۰	-	-	-

منابع

جوادیان، ف.، سپهری، ز.، امرایی، م.، کیانی، ز.، شهرکی، م.، شاهی، ز و پورقاسمی فتیده، س. ۱۳۹۳. بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی برگ چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) در برابر *Klebsiella pneumoniae* مقاوم به آنتی بیوتیک‌های مختلف. مجله دانشگاه علوم پزشکی سبزوار (اسرار)، ۲۲ (۴): ۵۷۰-۵۶۵.

رشیدی، م.، مصلحی شاد، م.، زیارتی، پ. و قمری، ف. ۱۳۹۷. مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره اتانولی چای ترش و علف چای بر علیه *Salmonella enterica* ، *Bacillus cereus* ، *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. پژوهش های صنایع غذایی، ۲۸ (۳): ۴۵-۳۷.

منصوری، ن.، مقدم، م.، کاظمی، ف.، بحرینی، م.، آرویی، ح. ۱۳۹۸. تأثیر عصاره‌های گیاهی و بسته‌بندی بر کیفیت میکروبی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان. میکروب شناسی مواد غذائی، ۶ (۴): ۲۳-۸.

Abdul Jaleel, C., Manirannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A. and Gopi, R. 2007. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus Roseus*: Effects on oxidative stress, Proline metabolism and indole alkaloid accumulation colloids and surface B. Bio interfaces, 60: 110-116

Anthony, J.P., Fyfe, L. and Smith, H. 2011. Plant active components. A resource for antiparasitic agents Trends in Parasitology, 3(21): 462-468.

Azimi, A., Delnavaz Hashemloian, B. and Mansoorghanaei, A. 2007. Antifungal Effects of Water, Alcoholic and Phenolic Extracts of Seeds and Leaves of *Sorghum bicolor* (L.) Moench on *Fusarium solani* and *F. poae*. Journal of Medicinal Plants, 1(21): 26-32.

Bahraminejad, S., Asenntorfer, R.E., Riley, I.T., Zwer, P., Schultz, C.J. and Schmidt, O. 2008a. Genetic variation of flavonoid defense compound concentration in oat (*Avena sativa* L.) entries and testing of

their biological activity. Proceedings of Australian Plant Breeding Conference, Christchurch, New Zealand, pp: 1127 - 32.

Bahraminejad, S., Asenstorfer, R.E., Riley, I.T. and Schultz, C.J. 2008b. Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots oats (*Avena sativa* L.). Journal of Phytopathology, 156: 1-7.

Carpinella, M.C., Giorda, L.M., Ferrayoli, C.G. and Palacios, S.M. 2003. Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(9): 2506-2511.

Cosic, J., Vrandecic, K., Postic, J., Jurkovic, D., and Ravlic, M. 2010. In vitro antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. Poljoprivreda, 16(2): 25-28.

D'Heureux Calix, F. and Badrie, N. 2004. Consumer acceptance and physicochemical quality of processed red sorrel/ roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) sauces from enzymatic extracted calyces. Food Service Technology, 4(4): 141-8.

Jalander, V. and Gachande, B. D. 2012. Effect of aqueous leaf extracts of *Datura* sp. against two plant pathogenic fungi. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences, 2(3): 131-134.

Kamali, H.H. and Mohammed, M.F. 2006. Antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa*, *Acacia Seyal* var. *Seyal* and *Sphaeranthus suaveolens* against upper respiratory tract pathogens. Sudan JMS, 1(2): 121-7.

Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. and Jukic, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry, 94: 550–557.

Tajkarimi, M.M., Ibrahima, S.A. and Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 4(21): 1199–1218.

Timothy, S., Anaegba, J., Yakubu, N., Sugun, M., David, B.N. and Wazis, H. 2008. Phytochemical and antimicrobial activity of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa*. Journal of Pharmacy and Bioresources, 5(1): 12-5.

Study of antifungal and antibacterial effect of Hibiscus tea alcoholic extract

Fatemeh Karimi Iraj[1], Hojjatollah Badaghi[2*] and Shideh Mojerloo[2*]
[1]Master student (Department of Horticulture and Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology)
2Assistant Professor (Department of Horticulture and Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology)
[*]*Corresponding Author: Shideh.mojerlou@shahroodut.ac.ir - h.bodaghi@yahoo.com*

Abstract

Hibiscus tea is a plant belonged to Malvaceae family with antioxidant, antibacterial effects and is effective against many diseases. In this study, the effect of ethanol extract of hibiscus tea on growth of important plant pathogens has been studied *in vitro*. Concentrations 5, 10 and 15% ethanol extract added to potato-dextrose-agar and nutrient agar media and growth inhibition evaluated 7 days and 48 to 72 hours after incubation for fungi and bacteria, respectively. Culture medium without extract used as control. Results showed that, ethanol extract of hibiscus tea has a powerful inhibitory effect on gram positive and negative bacteria (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas* sp. and *Rathayibacter tritici*) and fungi (*Fusarium solani*, *F. graminearum* and *Botrytis cinerea*). Concentration of 5% ethanol extract inhibited growth of all three bacteria completely (100%). Also, concentration 5% inhibited mycelial growth of *F. solani* completely and 10% ethanol extract showed 100% inhibitory effect on all three studied fungal pathogens. The results of this study confirmed the positive effects of plant extracts in controlling of fungal and bacterial pathogens. Also, the ethanol extract of the hibiscus tea could control the growth of important plant pathogenic fungi and bacteria *in vitro.*

***Keywords*:** Antimicrobial effect, Ethanolic extract, Hibiscus tea, Plant pathogens