



اثر حلال‌های مختلف در استخراج مواد موثره برگ زیتون علیه ۷ گونه قارچ بیماری‌زای پس از برداشت

طاهره السادات عسگریان*^۱ و عبدالحسین جمالی زواره^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* نویسنده مسئول: taherehasgarian@yahoo.com

چکیده

عصاره‌های برخی از گیاهان منبع غنی از ترکیبات شیمیایی فعال و دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند و می‌توانند به عنوان جایگزینی برای قارچ‌کش‌ها به شمار روند. در این پژوهش کارایی عصاره‌های گیاه زیتون برای کنترل ۷ گونه قارچ بیماری‌زای پس از برداشت شامل: *Penicillium expansum* *Rhizopus stolonifer* *Fusarium solani* *Aspergillus niger* *Alternaria alternata* و *Botrytis cinerea* و *Monilinia sp* بررسی شد. اثر بازدارندگی از رشد عصاره‌های متانولی، استونی و آبی در غلظت‌های صفر، ۱٪ و ۱۰٪ روی رشد رویشی قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاه به روش دیسک کاغذی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره استونی، بازدارندگی بیشتری از رشد قارچ‌ها داشت. در بین قارچ‌های مورد مطالعه *F. solani* و *A. alternata* بیشترین حساسیت را در مقابل عصاره‌ها داشتند. بنابراین به نظر می‌رسد بتوان در کنترل قارچ‌های انباری از ترکیبات طبیعی این گیاه استفاده نمود.

واژگان کلیدی: عصاره‌های گیاهی، اثرات ضد قارچی، *Alternaria alternata* *Fusarium solani*

مقدمه

ترکیبات فعال از منشأ گیاهی در محیط پایداری کمتری دارند و روی پستانداران و ارگانیزم‌های غیر هدف اثر ندارند و بنابراین امروزه از توجه ویژه‌ای برخوردار می‌باشند (تریودی، ۲۰۰۳). گزارشات زیادی در مورد سمیت عصاره‌های گیاهان عالی علیه جوانه‌زنی اسپور و رشد مبلیموم قارچ‌ها وجود دارد (تریپاتی، ۲۰۰۵). در آزمایشی اثر سه عصاره گیاهی *Acalypha*، *Ocimum gratissimum* و *wilkesiana* بر روی پاتوژن‌های بعد از برداشت آووکادو بررسی شد (اگیو و ایبو، ۲۰۰۸). در مطالعه دیگری اولئوروپین (oleuropein) استخراجی از عصاره‌های استونی زیتون در بازداری از رشد پاتوژن‌های قارچی *Botrytis cinerea* *Alternaria alternata* و گونه‌های *Rhizopus* موثر شناخته شد (ماوراکیس، ۲۰۰۹). هدف از انجام این پژوهش بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های متانولی، استونی و آبی برگ زیتون روی ۷ گونه قارچ بیمارگر پس از برداشت گیاهی در آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برگ‌های زیتون در بهار سال ۸۹ از کاشان جمع‌آوری و در آزمایشگاه و دور از تابش مستقیم آفتاب خشک شد. سپس به وسیله آسیاب خرد گردید و از الک عبور داده شد.



در این پژوهش قارچ های *Botrytis cinerea* ، *Alternaria alternata* ، *Fusarium solani* ، *Aspergillus niger* و *Penicillium expansum* مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره گیری با متانول: ۵ گرم از بافت آسیاب شده گیاه در ۱۰۰ میلی لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت در ۲۰ درجه سانتی گراد روی شیکر با ۳۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت. پس از این مدت ۷۵ میلی لیتر از محلول برداشته، ۲۵ میلی لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه گردید و حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد، سپس هم حجم با آن هگزان اضافه گردید. این مخلوط ۲ ساعت روی شیکر با همان دور قرار داده شد، سپس بخش های مختلف جدا گردید و بخش متانولی برای تبخیر متانول و استحصال عصاره در زیر هود قرار داده شد (عبدالملکی و همکاران، ۱۳۸۶).

عصاره گیری با استون: مانند روش عصاره گیری با متانول عمل شد ولی در این جا هگزان اضافه نگردید.

عصاره گیری با آب: ۵ گرم از بافت آسیاب شده با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل مخلوط و روی همزن مغناطیسی قرار داده شد بعد از به جوش آمدن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در آن قرار داده شد.

عصاره های به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

غلظت های صفر (شاهد)، ۱٪ و ۱۰٪ هر یک از عصاره ها برای انجام آزمایش تهیه شد. در مورد عصاره متانولی غلظت های مورد نظر با استفاده از متانول ۴۵٪ به دست آمد و در مورد عصاره های استونی و آبی برای رقیق کردن از آب استفاده شد. کلیه غلظت ها قبل از استفاده در اتاق کشت استریل به وسیله فیلتر ۰/۴۵ میکروپور سترون شد.

برای انجام آزمایش از حاشیه پرگنه یک هفته ای قارچ روی محیط کشت PDA، قرص هایی به قطر ۶ میلی متر توسط چوب پنبه سوراخ کن جدا گردید و در یک طرف تشتک پتری ۸ سانتی متر حاوی محیط کشت PDA قرار داده شد. ۱۰ عدد دیسک کاغذ صافی به قطر ۶ میلی متر در داخل غلظت مشخصی از عصاره مورد نظر غوطه ور شد تا کاملاً اشباع شود و سپس در طرف دیگر تشتک پتری در فاصله حدود ۲۵ میلی متری از قرص قارچ قرار داده شد. در تشتک های شاهد از دیسک های کاغذی اشباع شده با آب مقطر استریل و یا متانول ۴۵٪ استفاده شد. تشتک ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در انکوباتور نگهداری شد. با پر شدن تشتک های شاهد، شعاع هاله بازدارندگی از رشد قارچ، از روبرو، سمت چپ و راست دیسک کاغذی در تیمارهای مختلف یادداشت برداری شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد و نتایج حاصله نیز با تکرار مجدد کل آزمایش تثبیت گردید.

داده های به دست آمده، به علت تعدد عدد صفر بین آن ها، قبل از تجزیه آماری با استفاده از رابطه $\sqrt{X} + 0.5$ تبدیل شد. تجزیه واریانس با کمک نرم افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین با آزمون LSD با استفاده از نرم افزار MSTATC در سطح یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج اثرات بازدارندگی غلظت های مختلف انواع عصاره های برگ زیتون در جدول ۱ ارائه گردیده است مطابق این جدول بین شعاع هاله بازدارندگی توسط انواع عصاره های مورد مطالعه و غلظت های مختلف آن ها تفاوت معنی داری وجود دارد. به طوری که عصاره استونی استخراج شده و همچنین غلظت ۱۰٪ عصاره های استفاده شده بازدارندگی بیشتری از رشد قارچ ها نشان دادند. همچنین بر طبق نتایج به دست آمده حساسیت قارچ های مورد مطالعه در برابر عصاره ها یکسان نبوده و با هم اختلاف معنی داری نشان دادند. در این بین *Monilinia sp.* و *Penicillium expansum* ، *Aspergillus niger* ، *Rhizopus stolonifer* کمترین حساسیت

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

را در مقابل عصاره ها نشان دادند، به طوری که هیچ یک از عصاره ها، روی آن ها اثر بازدارندگی نداشت و *Fusarium solani* و *Alternaria alternata* بیشترین حساسیت را در مقابل عصاره ها داشتند.

میانگین شعاع هاله بازدارندگی (میلی متر)

شاهد	آبی		استونی			متانولی		قارچ	
	%۱	%۱۰	شاهد	%۱	%۱۰	%۱	%۱۰		
h	h	h	h	h	h	h	h	<i>A. niger</i>	
h	۰/۶ ^f	۱ ^e	h	۱/۳ ^{de}	۴ ^a	h	۰/۳ ^{gh}	۲ ^c	<i>F. solani</i>
h	h	h	h	h	h	h	h	h	<i>Monilinia</i> sp.
h	h	h	h	h	h	h	h	h	<i>R. stolonifer</i>
h	h	h	h	h	h	h	h	h	<i>P. expansum</i>
h	h	۱ ^e	h	۱ ^e	۱/۳ ^{de}	h	۱/۳ ^{de}	۱/۶ ^{cd}	<i>B. cinerea</i>
h	h	۱/۶ ^{cd}	h	۰/۳ ^{gh}	۴ ^a	h	h	۳/۳ ^b	<i>A. alternata</i>

جدول ۱. مقایسه میانگین غلظت های مختلف سه نوع عصاره روی قارچ های مختلف
a, b, c, d, e, f, g, h اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۱ ندارند.

نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج حاصل از یافته های ماوراکیس در مورد اثر عصاره های استونی زیتون در بازداری از رشد قارچ *B. cinerea* و *A. alternata* مطابقت دارد. در پژوهش حاضر عصاره های زیتون در کنترل رشد میسلیمی قارچ *R. stolonifer* اثر نداشت که با نتایج ماوراکیس اختلاف نشان داد. البته این پژوهشگر اثر اولئوپین (*oleuropein*) استخراج شده از برگ های زیتون را روی کنترل رشد قارچ ها بررسی کرده است. همچنین با توجه به این نکته که شرایط مختلف آب و هوایی فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار داده و مقدار و نوع متابولیت های ثانویه گیاه را متأثر می سازد (عبدالملکی و همکاران، ۱۳۸۶)، دلیل دیگری برای تفاوت در نتایج دو تحقیق می باشد.

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که به نظر می رسد بتوان از عصاره های گیاه زیتون جهت جلوگیری و یا به تأخیر انداختن آلودگی های قارچی پس از برداشت میوه ها در سردخانه استفاده نمود. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش و نتایج سایر پژوهشگران، هم چنین کم خطر بودن ترکیبات گیاهی برای انسان، تکرار آزمایشات انجام شده با حلال های دیگر و ارزیابی اثر بازدارندگی آن ها در سردخانه پیشنهاد می شود.



۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

۱. عبدالملکی م. پنجه که ن. بهرام نژاد ص. سالاری م. و عباسی س. ۱۳۸۶. اثرات ضد قارچی عصاره اندام های مختلف گیاه سماق (*Rhus coriaria*) روی چهار گونه قارچ بیماری زای گیاهی. پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی، جلد هفتم، شماره چهارم (الف)، صفحه ۱۲۱ تا ۱۳۱.
2. Ogbo E.M. and Oyibo A.E. 2008. Effects of three plant extracts (*Ocimum gratissimum*, *Acalypha wilkesiana* and *Acalypha macrostachya*) on post harvest pathogen of *Persea americana*. Journal of Medicinal Plants Research, 2(11):311-314.

The effect of different solvents in extracting effective compounds from leaf of *Olea europaea* against seven postharvest fungi species

Tahereh Sadat Asgarian,^{1,*} Abdul Hussain Jamali Zavareh¹

1- MSc. Student and Assis. Prof of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahre Kord University, Shahre Kord, Iran.

* corresponding E- mail address: taherehasgarian@yahoo.com

Abstract

Some plant extracts are rich source of active chemical compounds and have antifungal effects and can consider as replace for fungicides. In this study, the effectiveness of extracts of *Olea europaea* was evaluated against seven postharvest fungi species including *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* and *Monilinia* sp. The growth inhibiting effect (GIE) of methanolic, acetic and water extracts at the concentrations of 0, 1% and 10% on the vegetative growth of the fungi was investigated by paper disk method on PDA under *in vitro* condition. Results showed that acetic extracts had the most GIE. *A. alternata* and *F. solani* was the most sensitive fungi to the extracts. Therefore, it is likely possible using natural compounds of this plant for control of postharvest fungi.

Keywords: Plant extracts, antifungal effects, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*