دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2017.107159.1831
جلد ۳۳، شماره ۴، صفحه ۵۸۷- ۵۷۹ (۱۳۹۶)

بررسی خصوصیات مورفولوژی، اتنوفارماکولوژی، بیوشیمیایی و ضدقارچی گیاه دارویی علف سالک (*Ceratocephalus falcatus* L.)

صدیقه چورلی[۱] و سارا خراسانی‌نژاد[۲*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

پست الکترونیک: khorasaninejad@gau.ac.ir؛ Skhorasaninejad@yahoo.com

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۵ تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۵

چکیده

امروزه کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی با هدف کاهش اثرات خطرناک آفت‌کش‌های شیمیایی ازجمله تهدید سلامتی بشر، آلودگی محیط‌زیست، از بین بردن موجودات غیرهدف و پیدایش عوامل بیماری‌زای مقاوم یک اولویت می‌باشد. علف سالک (*Ceratocephalus falcatus* L.) گونه‌ای از تیره آلاله، گیاه بسیار کوچک و کوتاه، یک‌ساله، به ارتفاع ۵-۳ سانتی‌متر، با ساقه کوتاه است. نمونه‌های گیاهی در سه تکرار بر پایه طرح کاملاً تصادفی در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۴ از روستای بوژمهران (شهرستان نیشابور) با هدف ثبت خصوصیات مورفولوژیکی، بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی شامل فنل کل، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر عصاره آبی، متانولی و استونی این گیاه روی قارچ *Fusarium graminearum* جمع‌آوری گردید. تعداد گل در هر بوته به‌طور میانگین ۵ عدد، تعداد برگ ۱۹ عدد و طول اندام هوایی ۳ سانتی‌متر بدست آمد. میزان فنل کل ۰/۰۹۸ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم وزن خشک نمونه، میزان فلاونوئید کل ۰/۳۰۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک نمونه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن ۷۰/۶۱٪ مهار رادیکال‌های آزاد تعیین شد. از نظر تأثیر عصاره‌ها روی قارچ *Fusarium graminearum*، بیشترین رشد خطی میسلیوم را نمونه شاهد و کمترین را عصاره متانولی داشت. در نتیجه عصاره متانولی با غلظت ۳۰ppm، درصد بازدارندگی بیشتری روی رشد خطی میسلیوم قارچ مورد بررسی داشت که می‌توان بیان کرد گیاه علف سالک نیز دارای خاصیت ضدقارچی بوده و از جایگاه خوبی در برنامه‌های مطالعاتی برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آلاله، اتنوفارماکولوژی، خواص ضدقارچی، مورفولوژی.

مقدمه

بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی راهی برای پیدا کردن ترکیب‌های زیستی جدید علیه عوامل بیماری‌زای گیاهیست. گیاهان برای بیوسنتز این مواد انرژی زیادی را بکار می‌برند. زمانی‌که این ترکیب‌ها اثری بر رشد و نمو گیاه نداشته باشند، قاعدتاً باید منافع دیگری داشته باشند. مطالعه در زمینه وظایف این ترکیب‌ها در گیاهان، یک موضوع جذاب و مهم برای بسیاری از پروژه‌های تحقیقاتی شده‌است و نقش اکولوژیکی تعدادی از این ترکیب‌ها مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است (Abdolmaleki *et al.*,

2010). در سال‌های اخیر به‌دلیل بروز برخی مشکلات و تهدیدهای ناشی از مصرف سموم شیمیایی در سیستم‌های کشاورزی، گرایش زیادی به استفاده از پتانسیل بالقوه مواد بیولوژیکی در کنترل آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز ایجاد شده است (Abdolmaleki *et al*., 2011).

بررسی و جست‌وجو بر روی اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی و ترکیب‌های طبیعی نشان داده‌است که گیاهان منابع بالقوه‌ای از عوامل ضدعفونت را ارائه کرده‌اند که این امر معرفی ترکیب‌های جدیدی را به‌دنبال داشته است (Semnani *et al*., 2007). اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارای ترکیب‌هایی با فعالیت‌های زیستی متفاوت، ازجمله خواص ضدمیکروبی می‌باشند (Rodriguez *et al*., 2005).

گیاهان منبع غنی از ترکیب‌های فنلی (اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌ها) هستند که مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌شمار می‌آیند. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی به لحاظ محافظت بدن در مقابل استرس اکسیداتیو و حفظ سلامت حائز اهمیت هستند (Jamshidi *et al*., 2010). تعدادی از ترکیب‌ها با خواص آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان فرآورده‌های ثانویه توسط گیاهان ساخته می‌شود که ازجمله می‌توان به ترکیب‌های فنولی اشاره کرد که در مواجه گیاهان با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید می‌شود (McDonald *et al*., 2001). فرایند اثر ضدقارچی گیاه به دلیل ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از طریق آسیب به DNA، میتوکندری، آسیب به دیواره سلولی و در نهایت مرگ میکروارگانسیم باشد (Yahya-abadi *et al*., 2011).

سرده *Ceratocephalus*، که به آنها علف سالک نیز می‌گویند، گیاهانی علفی و کوچک‌اند. گل‌ها زرد رنگ و برچه‌های آن متعدد و جدا از هم می‌باشند که پس از رسیدن به فندقه‌هایی تبدیل و اغلب منتهی به منقار می‌شوند. گونه مهم این جنس در ایران *Ceratocephalus falcatus* می‌باشد (Mirjalili, 2008). *Ceratocephalus falcatus* گونه‌ای از تیره آلاله است. گیاه بسیار کوچک و کوتاه، یک‌ساله و به‌ارتفاع ۱۵–۳ سانتی‌متر، با ساقه کوتاه می‌باشد. برگ‌های آن بسیار بریده، شامل تقسیمات پنجه‌ای با قطعات باریک و خطی است. گل‌ها منفرد، زرد، بسیار کوچک، با ۵ کاسبرگ سبز و ۵ گلبرگ مجهز به چاله نوشگاهی پوشیده از فلس در قاعده است. برچه‌ها شامل دو قوز یا دو برجستگی در قاعده دارای منقاری خمیده و چنگالی در انتها بوده است و تعداد پرچم‌های آن کم و معدود و موسم گلدهی آن اسفند تا اردیبهشت‌ماه است (Ghahreman, 1996).

بیماری بلایت فوزاریومی خوشه Fusarium Head Blight (FHB) ازجمله بیماری‌های مهم قارچی غلات و به‌ویژه گندم در سرتاسر دنیا محسوب می‌گردد. این بیماری در نقاط مرطوب و نیمه‌مرطوب شیوع بیشتری دارد (Moradi *et al*., 2012). در ایران نیز این بیماری از سال‌ها پیش وجود داشته است (Bamdadian & Torabi, 1983). گونه‌های غالب عامل این بیماری در بسیاری از کشورها *Fusarium graminearum*، *F. avenaceum* و *F. culmorum* است. آلودگی به *Fusarium graminearum* می‌تواند منجربه آلودگی دانه به مایکوتوکسین‌های deoxynivalenol (DON)، 3-acetyldeoxynivalenol (3-ac DON)، 15-acetyldeoxynivalenol (15-AcDON)، nivalenol (NIV) و zeralenone (ZEA) شود (Miyanabi *et al*., 2014).

در بررسی اثر عصاره‌های آبی، متانولی، اتانولی و استونی خارخسک (*Tribulus terrestris*) بر رشد میسلیومی قارچ *B. sorokiniana*، تفاوت معنی‌داری بین عصاره‌های آبی، متانولی، اتانولی و استونی خارخسک برای جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *B. sorokiniana* نیافتند (Bahraminejad *et al*., 2011). در پژوهشی با استفاده از اسانس گیاهان برگ‌بو (*Laurus nobilis*)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و سداب (*Ruta graveolens*) توانستند قارچ‌های *F. oxysporum* و *R. solani* را تا ۱۰۰٪ مهار کنند (Pirajno *et al*., 2004).

از آنجایی‌که روی متابولیت‌های این گیاه و همچنین خاصیت ضدمیکروبی آن تحقیقی انجام نشده است، این تحقیق به‌منظور مطالعه خصوصیات بیوشیمیایی این گیاه و بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره‌های آبی، استونی و

متانولی علف سالک روی قارچ *Fusarium graminearum* و دستیابی به مناسب‌ترین حلال برای استخراج عصاره حاوی متابولیت‌های فعال و مؤثر در بازدارندگی رشد میسیلیوم قارچ مورد نظر انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در اردیبهشت ۱۳۹۴، بعد از شناسایی نمونه‌های گیاهی در رویشگاه مورد نظر از شهرستان نیشابور و تأیید گروه گیاه‌شناسی دانشگاه گلستان، اقدام به ثبت خصوصیات مورفولوژیکی آنها گردید. تعداد گل و تعداد برگ از طریق شمارش و طول اندام‌هوایی به‌وسیله خطکش تعیین شد. سپس نمونه‌های شامل همه اندام‌های هوایی، از سه توده در محل، جمع‌آوری و به آزمایشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. این تحقیق بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد، به‌طوری که در بخش مورفولوژیک و بیوشیمیایی دارای ۳ تکرار و در بخش آزمون ضدقارچی عصاره‌ها، آزمایش دارای چهار تیمار (شاهد بدون عصاره، عصاره آبی، عصاره متانولی و عصاره استونی) با ۳ تکرار بود. ارتفاع و مختصات جغرافیایی رویشگاه‌ها به‌وسیله GPS تعیین و ثبت گردید (جدول ۱). آمار هواشناسی نیز از ایستگاه هواشناسی تهیه (جدول ۲) و از هر منطقه نیز از عمق۰ تا ۳۰ سانتی‌متر نمونه خاک تهیه و سپس در آزمایشگاه آنالیز گردید (جدول ۳).

جدول ۱- ارتفاع و مختصات جغرافیایی نیشابور، رویشگاه محل جمع‌آوری علف سالک

رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا	مختصات جغرافیایی
نیشابور	۱۳۱۶ متر	N ۳۶ ۱۰ ۲۴ E ۵۸ ۵۸ ۵۳

N: شمالی E: شرقی

جدول ۲- آمار هواشناسی نیشابور و رویشگاه محل جمع‌آوری علف سالک

سال	حداقل درجه حرارت مطلق	حداکثر درجه حرارت مطلق	متوسط درجه حرارت	حداقل رطوبت نسبی مطلق	حداکثر رطوبت نسبی مطلق	متوسط رطوبت نسبی	میزان بارندگی (mm)	میزان تبخیر (mm)
۱۳۹۱	-۸/۷	۳۴/۶	۱۴/۲۹	۱۵	۹۲	۵۳/۱۶	۲۴۵/۹	۱۹۴۲
۱۳۹۲	-۵/۷	۳۴/۷	۱۴/۳۵	۲۱	۹۲	۵۳/۳۵	۱۶۳/۷	۲۱۵۳/۳
بهار ۱۳۹۳	۴/۵	۳۲/۴	۱۸/۳۶	۱۸/۱	۸۵/۴	۴۸/۸	۸۶/۹	۸۵۸/۵

جدول ۳- خصوصیات خاک‌شناسی نیشابور و رویشگاه محل جمع‌آوری علف سالک

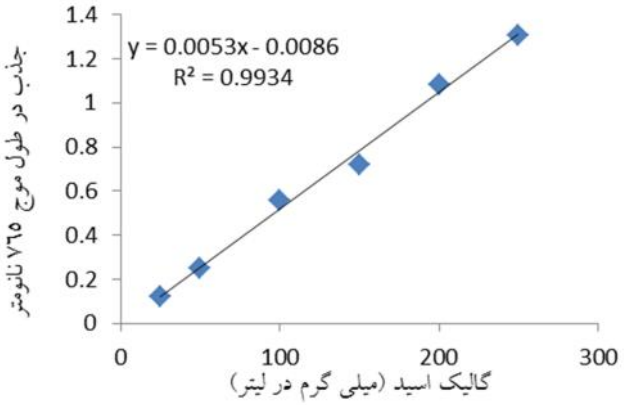
بافت				pH	هدایت الکتریکی (Ec)	درصد کربن آلی (OC)	فسفر قابل جذب (ppm)	ازت کل (ppm)	پتاسیم قابل‌جذب (ppm)
رس	سیلت	شن	نوع بافت						
۱۶	۵۶	۲۸	سیلت- لوم	۷/۲۳	۰/۸۸۷	۰/۱	۴/۴	۰/۰۶	۱۶۰

تهیه عصاره متانولی

پس از جمع‌آوری و انتقال نمونه‌ها اقدام به خشکاندن آنها در محیط اتاق با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، در شرایط سایه و با تهویه مناسب گردید. سپس به میزان یک گرم از گیاه پودر شده را در ارلن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲۰CC متانول ۸۰٪ به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفته و بعد عصاره متانولی حاوی نمونه با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. آنگاه عصاره خالص برای اندازه‌گیری فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فنل کل

میزان فنل کل با استفاده از روش فولین‌سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. به‌طوری که ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره در لوله آزمایش ریخته و بعد ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین‌سیوکالتیو به آن اضافه شد. بعد از ۸–۱ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات‌سدیم ۲۰٪ به محلول اضافه شده و بعد از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ۲۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. در تیمار شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. سپس در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در یک گرم نمونه خشک محاسبه گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت گالیک اسید (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در متانول ۸۰٪ استفاده شد (شکل ۱). این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شده و فنل کل بر حسب میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم برگ خشک بدست آمد، که بوسیله رابطه $Y= 0.0063X$ محاسبه می‌شود و Y عددی است که مقابل بلانک خوانده می‌شود و از این طریق X بدست می‌آید، که برای یک گرم بدست‌آمده و پس از آن برای ۱۰۰ گرم محاسبه می‌شود (Sigleton *et al*., 1999).



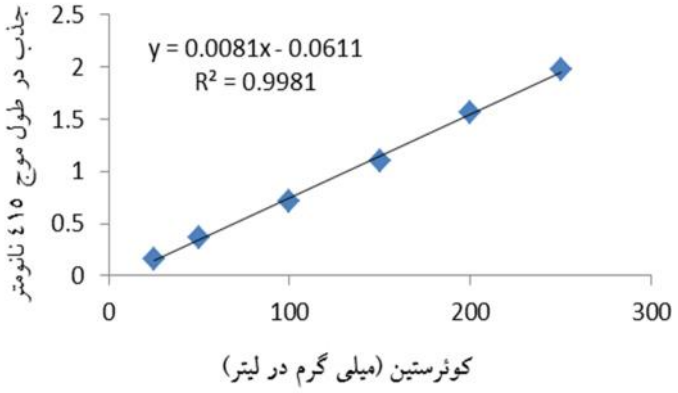
شکل ۱– نمودار استاندارد و معادله خط اسیدگالیک

محتوای فلاونوئید کل

برای محاسبه محتوای فلاونوئید از روش آلومینیوم‌کلرید استفاده شد. به‌صورتی که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم‌کلرید ۱۰٪ (۱۰ گرم آلومینیوم‌کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات‌پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. محلول حاصل ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شده، سپس در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Chang *et al*., 2002). برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف استاندارد کوئرستین (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) استفاده شد. از رابطه خط بدست‌آمده برای تعیین میزان فلاونوئید در ۱۰۰ گرم ماده خشک استفاده گردید (شکل ۲).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ابتدا ۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی را در لوله‌های آزمایش ریخته و با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH (۰/۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) مخلوط گردید.



شکل ۲- نمودار استاندارد و معادله خط کوئرستین

محلول کنترل شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول است. بعد از قرار دادن لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (McDonald *et al.*, 2001). اعداد بدست آمده از جذب نمونه توسط رابطه ۱ به درصد مهار تبدیل شد.

رابطه ۱ درصد DPPH= (درصد جذب شاهد−درصد جذب نمونه)/ درصد جذب شاهد ×۱۰۰

$A_{control}$: جذب محلول کنترل در ۵۱۷ نانومتر

A_{sampel}: جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر

بررسی خاصیت ضدقارچی عصاره‌های متانولی، آبی و استونی

به‌منظور ارزیابی تأثیر ضدقارچی عصاره‌های استونی، متانولی و آبی مورد مطالعه، از روش اختلاط با محیط کشت جامد استفاده شد. در ابتدا به‌ازای هر لیتر محیط کشت، ۴۰ گرم پودر آماده PDA (Potato Dextrose Agar) (Merck®) با آب مقطر مخلوط و ۲۰CC از آن در ارلن‌های ۵۰CC ریخته، پس از مسدود کردن درب با پنبه و فویل‌آلومینیومی، به‌منظور سترون‌سازی ارلن‌های حاوی محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه درون اتوکلاو با شرایط دمایی ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک بار گذاشته شدند. در ادامه ارلن‌ها از اتوکلاو خارج و تا تنزل دمای محیط کشت به حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد در زیر هود بیولوژیک سترون شده، آنگاه برای حصول اطمینان از اینکه کاملاً ضدعفونی شده باشند، در معرض تابش اشعه ماوراءبنفش قرار داده شدند. سپس سرشاخه با غلظت ۳۰ppm با PDA مذاب برای جلوگیری از بستن محیط و عدم ایجاد اختلاط درون ارلن مخلوط شد. محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف هر یک از عصاره‌های گیاهی کنار شعله چراغ الکلی به تشتک‌های پتری ۹ سانتی‌متری انتقال داده شدند. البته در نمونه تیمار شاهد عصاره به محیط کشت اضافه نشد. پس از انعقاد محیط‌های کشت حاوی عصاره، از حاشیه پرگنه کشت چهار روزه جدایه قارچی *F. graminearum* مورد آزمایش قرص آگار به قطر پنج میلی‌متر حاوی میسیلوم جوان تهیه و در مرکز تشتک‌های پتری قرار داده شد. به‌ازای هر تیمار، تعداد ۳ تکرار که هر تکرار شامل ۱۰ پتری‌دیش بود، مورد ارزیابی قرار گرفت. درب تشتک‌های پتری با نواری از پارافیلم مسدود و در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی مطلق تا زمان پر شدن تشتک تیمار شاهد توسط پرگنه قارچی درون انکوباتور نگهداری شدند. پس از اتمام دوره انکوباسیون، رشد خطی میسلیوم روی محیط کشت PDA بر حسب میلی‌متر محاسبه و ثبت گردید. درصد بازدارندگی (Sajjadi & Assemi, 2014) از طریق رابطه ۲ تعیین شد.

رابطه (۲) $IP = [(Dc - Dt) / Dc] \times 100$

در این رابطه IP ممانعت از رشد میسلیوم قارچ، Dc میانگین قطر رشد میسلیوم در شاهد، Dt میانگین قطر رشد میسلیوم در تیمار می‌باشد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز از نرم‌افزار SAS و برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵٪ استفاده شد.

نتایج

از نظر خصوصیات مورفولوژیکی، تعداد گل در هر بوته به‌طور میانگین ۵ عدد، تعداد برگ ۱۹ عدد و طول اندام هوایی ۳ سانتی‌متر تعیین گردید.

گیاه مورد بررسی در منطقه با نام علف سالک شناخته شده و سرشاخه‌های گلدار بخش قابل استفاده این گیاه بوده و آن را به‌عنوان دارویی برای درمان بیماری‌های پوستی به‌خصوص درمان سالک استفاده می‌کنند.

ترکیب‌های فنلی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که در اغلب گیاهان و فرآورده‌های حاصل از آنها وجود داشته و بسیاری از این ترکیب‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند (Morshedloo *et al*., 2012). میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه در جدول ۴ آورده شده است.

طبق شکل ۳، رشد میسلیوم دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بود و بیشترین رشد خطی میسلیوم را نمونه شاهد و کمترین را عصاره متانولی داشت.

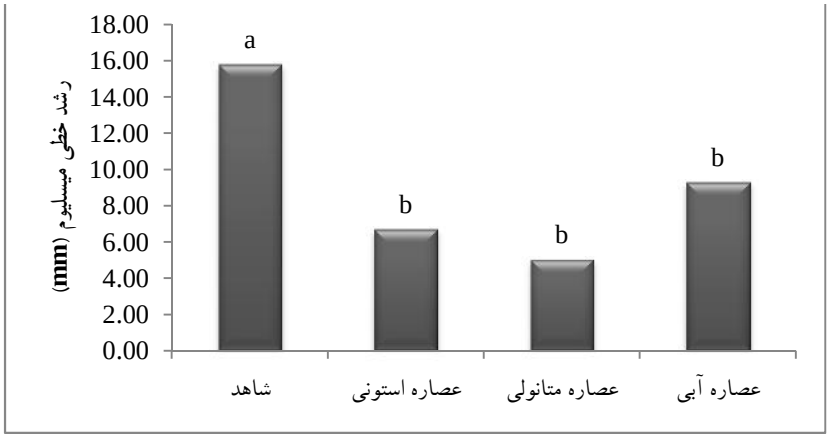
از نظر درصد بازدارندگی نیز بیشترین مربوط به عصاره متانولی بود (۶۸/۲۵٪) و درصد بازدارندگی دو عصاره استونی و آبی به‌ترتیب ۵۷/۹۶٪ و ۴۱/۲۶٪ تعیین گردید (شکل ۴).

بحث

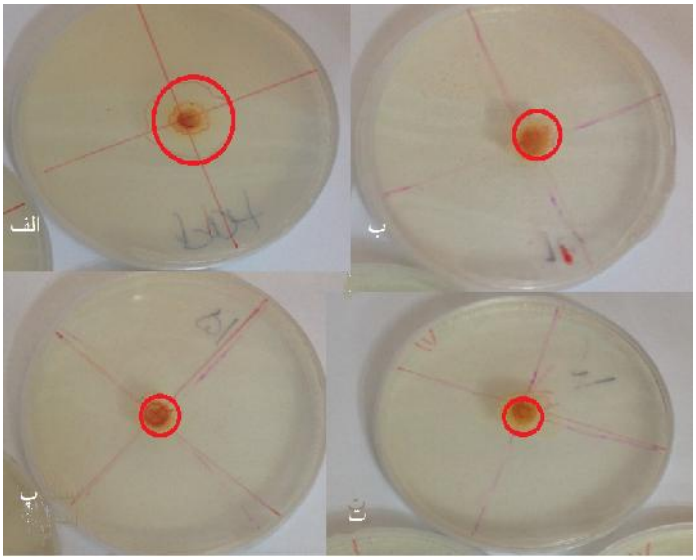
استفاده از توان بالقوه مواد بیولوژیکی با اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی و حشره‌کشی مورد توجه محققان زیادی قرار گرفته است. گیاهان بیش از ۵۰۰۰ متابولیت ثانویه طبیعی با وزن مولکولی پائین تولید می‌کنند که بسیاری از این متابولیت‌ها در دفاع گیاه در مقابل آفات و امراض مؤثر می‌باشند (Muyima *et al*., 2013).

جدول ۴- میانگین مقادیر فنل، فلاونوئید و فعالیت‌آنتی‌اکسیدانی گیاه علف سالک

میزان فنل کل (میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم)	میزان فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا درصد مهار رادیکال‌های آزاد
۰/۰۹۸	۰/۳۰۲	۷۰/۶۱۸



شکل ۳- مقایسه میانگین رشد خطی میسلیوم *F. graminearum* تحت تأثیر عصاره آبی، استونی و متانولی علف سالک



شکل ۴- بررسی رشد قارچ *F. graminearum* در محیط کشت حاوی عصاره
الف: شاهد، ب: آبی، پ: استونی و ت: متانولی (قطر حلقه قرمز، میزان رشد قارچ را نشان می‌دهد.)

نتایج این تحقیق برای دستیابی به بهترین حلال برای استخراج مواد بازدارنده رشد قارچ *F. graminearum* نشان داد که بهترین حلال متانول می‌باشد. باتوجه به مطالعه‌ای که روی اثر عصاره متانولی ۲۷ گونه گیاهی بر علیه پنج قارچ بیماری‌زای گیاهی مشخص شد قارچ‌های مورد بررسی در این مطالعه از گروه‌های مختلف بوده و تنوع جالب توجهی نیز در پاسخ قارچ مورد مطالعه نسبت به عصاره گیاهی مشاهده شد. به‌طوری که مقاومت بالای قارچ فوزاریوم و حساسیت بالای ریزوکتونیا در پاسخ به عصاره‌های گیاهی دیده شد (Abdolmaleki *et al*., 2014)؛ که نشان‌دهنده قدرت بالای این قارچ و دشواری کنترل آن می‌باشد که در این تحقیق عصاره متانولی گیاه مذکور اثر بازدارندگی قابل قبولی بر آن داشته است. این تحقیق با نتایج تحقیق Nazemi (۲۰۰۵)، روی اثر عصاره گلپر ایرانی (*Heracleum persicum*) همسو می‌باشد. آنان دریافتند که عصاره آبی فاقد اثر ضدمیکروبی علیه میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه بود، درحالیکه عصاره متانولی بر روی رشد ۵ گونه باکتریایی از جنس‌های باسیلوس، استرپتوکوکوس، انتروکوکوس و نوکاردیا اثر مهاری داشت. همچنین در پژوهش Gorran و همکاران (۲۰۱۵) نتایج نشان داد که گیاه مرزه خوزستانی (*Satureja khozistanica*) در مقایسه با مرزه ماکروسیفون (*Satureja macrosiphon*) از خاصیت ضدقارچی بالاتری برخوردار است و اسانس و عصاره اتانولی مرزه خوزستانی تأثیر قابل توجهی را در جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) و کاهش آفلاتوکسین تولیدی داشت، در حالیکه عصاره آبی مرزه ماکروسیفون فعالیت تجزیه‌کنندگی بالاتر آفلاتوکسین B1 را نشان داد.

البته در مورد نحوه اثر انواع عصاره‌های آبی، استونی و متانولی گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد، به‌طوری که عصاره استخراج شده نعناع فلفلی با حلال متانول و استون تأثیر کمی بر رشد میسلیومی قارچ *Bipolaris sorokiniana* داشتند (Abdolmaleki *et al*., 2011) که می‌توان بیان کرد با توجه به اینکه حلال مؤثر برای استخراج متابولیت بازدارنده رشد قارچ متفاوت می‌باشد، در مورد هر گونه گیاهی باید با همه انواع حلال آزمایش‌های بازدارندگی انجام شود تا بهترین حلال شناسایی گردد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که این گیاه دارای متابولیت‌های ثانویه بوده و دارای ارزش ضدقارچی است. به‌علاوه این نتایج، مطالعات قبلی را مبنی بر اینکه متانول برای استخراج مواد ضدمیکروبی از گیاهان دارویی در

مقایسه با دیگر حلال‌ها ازجمله آب، اتانول و هگزان حلال بهتری است، تأیید می‌کند و می‌توان بیان کرد که نیاز است تا بررسی‌های بیشتری روی آن انجام شود.

منابع مورد استفاده

- Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S. and Abbasi, S., 2014. In vitro screening of 27 plant species against phytopathogenic fungi. Journal of Medicinal plants, 3(38): 1-11.
- Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Abbasi, S. and Mahmoudi, S.B., 2010. Inhibitory effect of some plant extracts on mycelial growth of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora drechsleri*, sugar beet root rot agents. Journal of Sugar Beet, 25(2): 193-205.
- Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S. and Panjeke, N., 2011. Antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of Medicinal Plants, 2(38): 26-34.
- Bahraminejad, S., Abbasi, S. and Fazlali, M., 2011. In vitro antifungal activity of 63 Iranian plant species against three different plant pathogenic fungi. African Journal of Biotechnology, 10(72): 16193-16201.
- Bamdadian, A. and Torabi, M., 1983.Wheat and Barely Diseases in Iran, Methods of Scoring. Plant Pests and Diseases Research Institute Publications, 67p.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and Drug Analysis, 10: 178-182.
- Ghahreman, A., 1996. Flora of Iran (Vol. 1). Tehran, Research Institute of Forests and Rangelands Publications.
- Gorran, A., Salehnia, B., Alizadeh, H., Farzaneh, M. and Shivazad, M., 2015. Effect of essential oils and extracts of *Satureja macrosiphon* and *Satureja khozistanica* on mycelial growth and aflatoxin B1 production in *Aspergillus flavus*. Journal of Veterinary Research, 70(2): 139-145.
- Jamshidi, M., Ahmadi-Ashtiani, H., Rezazadeh, S., Fathiazad, F., Mazandarani, M. and Khaki, A., 2010. Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Journal of Medicinal Plants, 2(34): 177-182.
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73: 73-84.
- Mirjalili, A., 2008. Study of medicinal and odorous plants. Institute of Higher Education, of Applied Science of Jahad Keshavarzi.
- Miyanabi, S., Mirabolfathi, M. and Gayatzamahrir, M., 2014. Molecular studies of *Fusarium graminearum* species group isolated of wheat in Ardabil province Iran. Agricultural Biotechnology, (13): 89-97.
- Moradi, S., Sanjarian, F. and Safaee, N., 2012. Optimization of protoplast production in plant pathogen fungus *Fusarium graminearum* in order to its transformation. Iranian Journal of Biology, 25(4): 493-500.
- Morshedloo, M., Yazdani, D., Ebadi, A. and Fatahi Moghaddam, M., 2012. Essential oil composition, total phenol compounds and antioxidant activity of *Hypericum perforatum* L. extract collected from north of Iran. Journal of Medicinal Plants, 11(8): 218-226.
- Muyima, N.Y.O., Nziweni, S. and Mabinya, L.V., 2013. Antimicrobial and antioxidant activities of *Tagetes mimuta*, *Lippia javanica* and *Foeniculum vulgare* essential oils from Eastern Cape Province of south Africa. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 7: 68-78.
- Nazemi, A., 2005. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Heracleum persicum*. Medical Science Journal of Islamic Azad University, 2: 91-94.
- Pirajno, G., Scarito, G. and Salamone, A., 2004. Fungistatic activity of essential oils of *Laurus nobilis*, *Mentha piperita* and *Ruta graveolens* against *Rhizoctonia solani* Kuhn and *Fusarium oxysporum* (L.) De Bary. Journal of Plant Pathology, 84(4): 329-337.
- Rodriguez, D.J., Castillo, D.H., Garcia, R.R. and Sanchez, J.L.A., 2005. Antifungal activity of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products, 21: 81-87.
- Sajjadi, A. and Assemi, H., 2014. Study of antifungal activity of plant extracts on tobacco *Fusarium* wilt agent. Research in Plant Pathology, 1: 47-62.
- Semnani, M., Saeedi, K., Mahdavi, M. and Rahimi, F., 2007. Antimicrobial effects of methanolic extracts of some species of *Stachys* and *Phlomis*. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 17(57): 57-66.
- Sigleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela, R.R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178.
- Yahya-abadi, S., Zeabanejad, E. and Doudi, M., 2011. Effect of plant extracts on growth of *Aspergillus* fungi. Journal of Herbal Drugs, 2(1): 69-81.

Morphological, ethnopharmacological, biochemical and anti-fungal characteristic of *Ceratocephalus falcatus* L.

S. Chorli[1] and S. Khorasaninejad[2*]

1- M.Sc. Graduate Student, Department Medicinal Plant, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2*- Corresponding author, Department of Horticulture Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, E-mail: Skhorasaninejad@yahoo.com; khorasaninejad@gau.ac.ir

Received: August 2016 Revised: January 2017 Accepted: January 2017

Abstract

The biological control of plant pathogens is a priority for reducing of the dangerous effects of chemical pesticides that are include threats for human health, environmental pollution, and the emergence of pathogens resistant eliminates. *Ceratocephalus falcatus* L. such a buttercup, plant is very small annual plant, 3-5 cm tall, it has short stems. Plant samples were collected based on completely randomized design with three replications in May 2015 from the village of Buzhmehran (city of Neyshabur) to record of morphological, phytochemical characterization such as total phenol, total flavonoids and antioxidant water extract, methanol and acetone plant the fungus *Fusarium graminearum*. The number of flowers per plant on average 5 numbers, leaf number was 19 and the plant is 3 cm tall. The total phenol Gallic acid 0/098 mg per gram of dry weight, the flavonoids quercetin 0/302 mg per gram of dry weight and percent free radical scavenging antioxidant activity it was determined 70/618. The effect of the extracts on the fungus *Fusarium graminearum* were showed that the most-linear growth of mycelium to control the methanol extract had the lowest. As a result, methanol extracts percent more on linear growth inhibition was assessed fungus can be concluded that *Ceratocephalus falcatus* has antifungal properties and enjoys good standing in study programs.

Keywords: Buttercup, ethno pharmacology, anti fungi, morphology.