

تأثیر بازدارندگی عصاره‌های گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) بر رشد قارچ *Macrophomina phaseolina* و استخراج مواد مؤثره آن‌ها

مائده شهیری طبرستانی^{۱*} - کامران رهنما^۲ - علیرضا امیری^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹

چکیده

قارچ *Macrophomina phaseolina* عامل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا می‌باشد. این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های سویا در شمال کشور است. این پاتوژن دامنه میزبانی وسیعی دارد و بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی از ۷۵ خانواده از جمله خانواده پروانه آسا را مورد حمله قرار می‌دهد. با توجه به اثر قارچ‌کشی عصاره گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*)، در این بررسی عصاره‌های آبی و الکلی آن استخراج و اثر غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد آن‌ها در کنترل قارچ *M. phaseolina* در شرایط آزمایشگاه مطالعه گردید. در این تحقیق، اثر ضدقارچی عصاره آبی مشاهده نشد اما غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد عصاره الکلی این گیاه به ترتیب با ۳۹/۲۵، ۶۷ و ۱۰۰ درصد، اثرات بازدارندگی خوبی (نسبت به شاهد) بر رشد میسلیم قارچ *M. phaseolina* نشان دادند. همچنین در غلظت ۲۰ و ۳۰ درصد عصاره الکلی، تشکیل اسکروت مشاهده نشد و در غلظت ۱۰ درصد نیز میزان تشکیل اسکروت کاهش یافت. به منظور شناسایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در عصاره الکلی از دستگاه GC/MS استفاده گردید. بر اساس نتایج حاصله، ۲۷ ترکیب شیمیایی، شناسایی شدند که اجزاء اصلی شامل فتالات‌ها (۵۴/۳٪)، اسیدهای چرب و مشتقات آن (۲۶/۶۱٪)، ترپنوئیدها (۲/۶۵٪)، دی‌ترپن‌های الکلی (۲/۰۹٪)، مشتقات فنلی (۱/۵۸٪)، فیتواسترول‌ها (۳/۳۸٪) و سیکلوآلکان‌ها (۰/۳۸٪) بودند. با توجه به اثرات ضدقارچی این ترکیبات، پتانسیل بالای ضد قارچی عصاره الکلی قابل توجه می‌باشد. این تحقیق اولین بار است که در ایران انجام می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره گیاهی، GC/MS، *Macrophomina phaseolina*، *Sambucus ebulus*

مقدمه

کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی یکی از چالش‌های مهم در کشاورزی بوده و میزان بیماری‌هایی که به وسیله قارچ‌ها در گیاهان ایجاد می‌شود بسیار زیاد است. محققین سال‌ها برای کنترل قارچ‌ها، بر استفاده از قارچ‌کش‌های سنتزی تأکید داشتند، اما با توجه به تأثیر سوء بهداشتی و زیست محیطی سموم شیمیایی، ایجاد جهش در عوامل بیماری‌زا و مقاومت به سموم مختلف، ادامه روند استفاده از سموم شیمیایی، مطمئن نمی‌باشد. برخی از گیاهان، توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، استروئیدها و دیگر ترکیبات آروماتیک را دارند که بر روی موجودات دیگر اثرات

نامطلوب می‌گذارند. بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی نویدی برای پیدا کردن ترکیبات زیستی جدید علیه قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌باشد. در سال‌های اخیر بررسی‌های آزمایشگاهی فراوانی در زمینه تأثیر فرآورده‌های گیاهان دارویی روی قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی انجام شده است و اثرات بسیاری از اسانس‌ها و عصاره‌ها به اثبات رسیده است (۶ و ۲۶).

قارچ *Macrophomina phaseolina* عامل سوختگی گیاهچه، پوسیدگی ریشه و پوسیدگی ذغالی بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی غیر زراعی و زراعی شامل سویا، پنبه، کنجد، ذرت، آفتابگردان، سورگوم، توتون و غیره بوده و در ایران، اولین بار از مزارع خربزه اطراف اصفهان در سال ۱۳۴۸ توسط شریف گزارش شده است (۲۵). قارچ عامل بیماری در خاک و روی بقایای سویا به صورت سختینه‌های ریز (اسکروت) سیاه‌رنگ باقی می‌ماند. این بیماری از مهم‌ترین بیماری‌های سویا در شمال کشور (استان‌های مازندران و گلستان) بوده که در بسیاری مواقع، خسارت اقتصادی در سویا ایجاد می‌کند. در بررسی اثر عصاره الکلی گیاه آقطی روی قارچ عامل بیماری بلاست برنج (*Pyricularia grisea*) مشخص شد، عصاره‌ی مورد

۱- استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
* - نویسنده مسئول: (Email: maedeshahiri@yahoo.com)
۲- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
۳- پژوهشکده فناوری نانو، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، ایران

استخراج عصاره آبی

فرآیند استخراج عصاره آبی به روش خیساندن صورت گرفت (۱۹).

استخراج عصاره الکلی

فرآیند استخراج عصاره الکلی با استفاده از حلال اتانل به روش سوکسله به مدت ۸ ساعت انجام پذیرفت.

بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های آبی و الکلی در برابر

رشد قارچ *M. phaseolina*

پس از استخراج عصاره آبی و الکلی، هریک به‌طور مجزا به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلأ دورانی تغلیظ شد. به منظور حذف کامل حلال، عصاره به مدت یک ساعت در آن دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. ۲/۵ گرم از عصاره آبی و الکلی حاصل، هریک جداگانه در ۱۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به‌طور کامل حل و محلول حاصل به عنوان محلول پایه در نظر گرفته شد و قبل از استفاده، در زیر هود به‌وسیله فیلتر میلی‌پور ۰/۲۲ میکرون سترون شد. غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد محلول پایه با محیط کشت PDA (اتوکلاو شده) تهیه گردید. جهت تیمار شاهد از غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد آب مقطر سترون با محیط کشت PDA (اتوکلاو شده) استفاده شد. پس از انعقاد محیط کشت، قرص‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از پرگنه ۵ روزه قارچ *M. phaseolina* جدا و در مرکز هر یک از تشتک‌های فوق قرار داده شد (۱۸). این آزمایشات به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام گرفت. قطر رشد پرگنه قارچ ۴ روز پس از نگهداری در دمای 1 ± 26 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری و درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری نسبت به شاهد طبق رابطه زیر محاسبه گردید (۲۲).

$$MGI = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

درصد بازدارندگی از رشد

قارچ عامل بیماری

DC = میانگین قطر پرگنه قارچ عامل بیماری در تشتک شاهد

Dt = میانگین قطر پرگنه قارچ عامل بیماری در تشتک تیمار شده

با عصاره

داده‌های بدست آمده از آزمایشات، با استفاده از آزمون چند دامن‌های دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد به‌وسیله نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

آنالیز و شناسایی اجزای عصاره الکلی

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده عصاره الکلی با استفاده از دستگاه GC/MS شناسایی شدند.

استفاده از رشد قارچ عامل بلاست برنج جلوگیری می‌نماید (۱). اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه آقطی بر *Staphylococcus aureus* توسط قسمتی و همکاران (۱۳) به اثبات رسید. اثر ضد قارچی عصاره آبی آویشن، نعناع و رازیانه نیز در کاهش رشد قارچ *M. phaseolina* ثابت شد (۲۳).

اثر ضدقارچی عصاره‌های گیاهی اکالیپتوس، خرزهره، سیر، چربش و آکاسیا بر قارچ عامل پوسیدگی ذغالی سویا توسط محققان مختلف به اثبات رسیده است (۷، ۱۶، ۱۲، ۱۷ و ۲۸).

با توجه به مشاهدات جاوید و رحمان (۱۷) مشخص شد، عصاره‌های کلروفرمی و اتیل استاتی گیاه *Azadirachta indica* حاوی ترکیبات قارچ‌کشی است که می‌تواند در کنترل *M. phaseolina* مورد استفاده قرار گیرد.

در تحقیقی مبنی بر اثرات ضد قارچی عصاره گیاهان *Ocimum sanctum L.*, *Azadirachta indica*، *Aloe vera*، *Lantana camara*، *basilicum* بر قارچ *M. phaseolina* مشخص شد، این عصاره‌ها اثرات ضدقارچی متفاوتی دارند (۱۴).

با توجه به این تحقیقات و با استفاده از مواد مؤثره موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های مورد بررسی، امکان تهیه و تولید فرآورده‌های گیاهی و کاهش استفاده از سموم شیمیایی فراهم می‌شود. در تحقیق حاضر، اثر ضدقارچی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه آقطی بر کنترل رشد قارچ *M. phaseolina* در شرایط آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفته و با توجه به پتانسیل ضدقارچی عصاره الکلی، ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن شناسایی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه قارچ عامل بیماری

قارچ *Macrophomina phaseolina* از مرکز تحقیقات کشاورزی استان مازندران - بخش آفات و بیماری‌های گیاهی، دریافت شد. این قارچ از ساقه‌های سویای آلوده به بیماری پوسیدگی ذغالی جداسازی شده بود. به منظور تجدید کشت قارچ، یک حلقه از حاشیه پرگنه آن برداشته و روی محیط کشت PDA کشت داده شد و پس از آزمایش بیماری‌زایی مورد استفاده قرار گرفت.

جمع‌آوری گیاه

گیاه آقطی مورد استفاده در این تحقیق، تیر ماه ۱۳۹۳ از اطراف شالیزارهای روستای رمنت بابل (استان مازندران) در مرحله رشد رویشی، جمع‌آوری و براساس فلور ایرانیکا شناسایی شد (۲۹). برگ‌های گیاه از شاخه‌ها جدا و با آب مقطر سترون شستشو داده شد و در شرایط سایه خشک و به‌وسیله‌ی آسیاب به‌صورت پودر درآمدند.

دستگاه GC/MS

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Agilent 7890 A متصل به طیف‌سنج جرمی Agilent 5975 C، با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ستون DB-5 که ستون ناقطبی (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) است، فشار گاز سر ستون ۳۵ پوند بر اینچ مربع، درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. شناسایی طیف‌ها به کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای عصاره و بررسی الگوهای شکست آنها، مقایسه آنها با طیف‌های استاندارد و یا استفاده از منابع معتبر صورت گرفت. درصد کمی هر ترکیب نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد.

بار یک نتیجه دریافت شد. با توجه به اینکه بیشتر مواد مؤثره گیاه آقطی محلول در الکل‌اند، به‌نظر می‌رسد نتیجه حاصل قابل توجیه می‌باشد.

بررسی اثر ضدقارچی عصاره الکلی در برابر رشد قارچ

M. phaseolina

در بررسی غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه آقطی، هر سه غلظت به‌کار رفته توانستند از رشد قارچ *M. phaseolina* جلوگیری نمایند. در بین آنها غلظت ۳۰ درصد در مقایسه با شاهد با درصد بازدارندگی ۱۰۰ درصد بیشترین اثر و غلظت ۱۰ درصد در مقایسه با شاهد با درصد بازدارندگی $1/79 \pm 39/25$ کمترین اثر را داشت. بین غلظت‌های مختلف عصاره الکلی از نظر جلوگیری از رشد قارچ *M. phaseolina* تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد وجود داشت (جدول ۱).

بررسی اثر ضدقارچی عصاره الکلی در تشکیل اسکروت

M. phaseolina قارچ

در غلظت ۲۰ و ۳۰ درصد عصاره الکلی، تشکیل اسکروت مشاهده نشد. در غلظت ۱۰ درصد نیز، میزان تشکیل اسکروت، به میزان چشمگیری کاهش یافت.

نتایج

بررسی اثر ضدقارچی عصاره آبی در برابر رشد قارچ *M.**phaseolina*

بررسی غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه آقطی مشخص شد، هیچ‌کدام از سه غلظت به‌کار رفته نتوانستند از رشد قارچ *M. phaseolina* جلوگیری نمایند. این آزمایش دوبار تکرار شد و هر دو

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه آقطی در برابر رشد قارچ *M. phaseolina*Table 1- Effect of different concentrations of alcoholic extract of *Sambucus ebulus* on *M. phaseolina*

غلظت عصاره در هر تشتک (%)	میانگین قطر پرگنه (cm)	Std	میانگین درصد بازدارندگی	Std
Concentration of extract in each plate (%)	Mean of colony diameter (cm)		Mean of inhibition percent	
10	4.55**	0.13	39.25**	1.79
20	2.45**	0.06	67.00**	0.91
30	0**	0	100.00**	0
10 شاهد (control)	7.50**	0	0**	0
20 شاهد (control)	7.50**	0	0**	0
30 شاهد (control)	7.50**	0	0**	0

* معنی‌دار در سطح ۵٪، ** معنی‌دار در سطح ۱٪

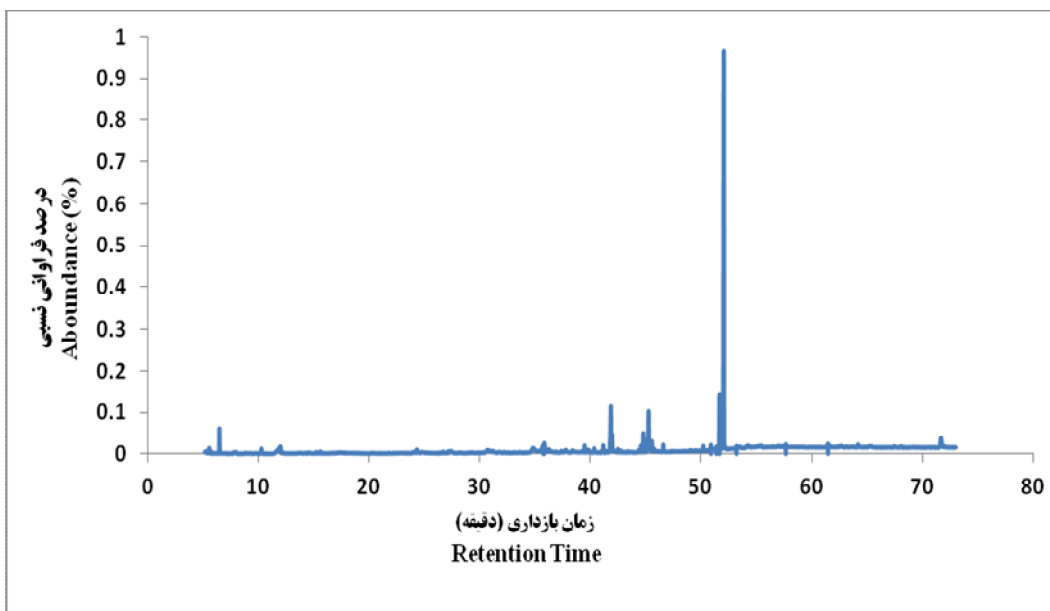
*Significant in %5 level, ** Significant in %1 level

نتایج آنالیز و شناسایی اجزای عصاره الکلی

نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی عصاره الکلی برگ گیاه آقطی در شکل ۱ آمده است. در مجموع ۲۷ ترکیب شناسایی شدند که عمده‌ترین ترکیب‌ها عبارتند از منو (۲- اتیل‌هگزیل) فتالات (۵۴/۳٪)، پالمیتیک اسید (۸/۲۴٪)، آلفا لینولنیک اسید (۷/۷۸٪)، ایزو والریک اسید (۴/۳۳٪). این ترکیبات، ۷۴/۶۵ از ترکیب‌های شیمیایی موجود در عصاره را تشکیل می‌دهند (جدول ۲).

بحث

در این پژوهش، اثر عصاره‌های آبی و الکلی گیاه آقطی بر قارچ *M. phaseolina* عامل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد عصاره الکلی برخلاف عصاره آبی، به‌خوبی توانست رشد قارچ عامل بیماری را در شرایط آزمایشگاه کنترل نماید.



شکل ۱- کروماتوگرام حاصل از عصاره الکلی گیاه آقطی
Figure 1- Chromatogram of alcoholic extract of *Sambucus ebulus*

جدول ۲- ترکیب‌های شناسایی شده در عصاره الکلی گیاه آقطی
Table 2- Identified compounds in alcoholic extract of *Sambucus ebulus*

ردیف (Row)	نام ترکیب (Compound Name)	درصد فراوانی (Abundance)	زمان بازداری (Retention Time)
1	Acetic acid	1.23	5.503
2	1,3-dimethoxy- Propane	0.19	5.601
3	1-Butanol	2.49	6.415
4	1,1-diethoxy-2-Propanone	0.61	11.867
5	Isovaleric acid	4.33	11.890
6	4-vinylphenol	0.9	24.272
7	N-(3-hydroxy-4-methylphenyl)-1-deoxy-1-amino-beta-D-mannopyranose	0.5	30.735
8	D(-)-Quinic acid	0.38	34.760
9	Pentanoic acid, propyl ester	0.27	36.221
10	exo-Tricyclo[5.3.2.0(1,7)]dodecan-2-ol	0.55	37.752
11	(-)-Loliolide	0.23	38.347
12	Neophytadiene	2.65	39.421
13	9-Methyl-3,4-dihydro-2H-pyrido(1,2-a)pyrimidin-2-one	2.50	39.768
14	Lignocaine	0.34	41.038
15	14-methyl-Pentadecanoic acid, methyl ester	0.80	41.125
16	palmitic acid	8.24	41.812
17	Hexadecanoic acid, ethyl ester	0.33	42.436
18	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	0.36	44.394
19	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)	0.9	44.526
20	Phytol	2.09	44.740
21	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)	1.97	45.075
22	α-Linolenic acid	7.78	45.214
23	Octadecanoic acid	1.57	45.520
24	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)	0.33	45.722
25	Mono(2-ethylhexyl) phthalate	54.3	52.023
26	D, .alpha.-Tocopherol	0.68	64.151
27	22,23 -dihydro Stigmasterol	3.38	71.653

تشکیل می‌دهند مربوط به اسیدهای چرب و مشتقات آن می‌باشند (جدول ۲).

از دیگر ترکیب‌های ضدقارچی موجود در این عصاره، از گروه ترپنوئیدها، نئوفیتادیان (۲/۶۵٪): از گروه دی‌ترپن‌های الکی، فیتول (۲/۰۹٪): از مشتقات فنلی، ۴- وینیل فنل (۰/۹٪) و آلفا توکوفرول (۰/۶۸٪): از گروه فیتواسترول‌ها، استیگماسترول (۳/۳۸٪) و از گروه سیکلوآلکان‌ها، کوئینیک اسید (۰/۳۸٪) را می‌توان نام برد (جدول ۲). اثر ضد باکتریایی نئوفیتادیان توسط سینگ و همکاران (۲۷) به اثبات رسید.

رامان و همکاران (۲۴) اعلام نمودند فعالیت‌های ضدقارچی و ضدباکتریایی ترکیب‌های گیاهی در برابر بیمارگرهای مختلف مربوط به وجود فنل‌ها، فلاونوئیدها، مشتقات الکی و ترکیبات منحصر به فردی مانند منو (۲- اتیل‌هگزیل) فتالات، آلفا توکوفرول، فیتول، ۲، ۴، ۶- تریس- (۱- فنیل اتیل)- فنل، استیگماسترول و نئوفیتادیان می‌باشد.

عصاره الکی برگ گیاه آقطی موجود در روستای Imnicu کشور رومانی، با استفاده از دستگاه GC-MS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و ترکیباتی مانند اسیدهای چرب، کوئینیک اسید و ترکیبات فنلی شناسایی شدند. طبق این بررسی، ترکیبات فنلی از ترکیبات اصلی این گیاه می‌باشد که دارای خواص درمانی بوده و در برگ‌های این گیاه به فراوانی یافت می‌شود. این ترکیبات، زمانی آزاد می‌شوند که از اتانول به‌عنوان حلال استخراج کننده استفاده شود. در این تحقیق ترکیبات منو (۲- اتیل‌هگزیل) فتالات، نئوفیتادیان، فیتول، آلفا توکوفرول و استیگماسترول در عصاره برگ دیده نشد (۱۰). به نظر می‌رسد، این نتیجه اثر رویشگاه‌های مختلف (از نظر منشأ بذری و آب و هوایی) بر میزان و نوع متابولیت ثانویه گیاهان را ثابت کند که این یافته با نتایج دیگر محققین (۵ و ۲۰) مطابقت دارد.

در تجزیه و تحلیل کروماتوگرام GC-MS عصاره ساقه گیاه آقطی، اسیدهای کربنیل، اترها و ترکیبات فنلی به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شدند (۹).

در جستجوی تولیدات دارویی گیاه آقطی مشخص شد، پلی‌فنل‌ها، استرول‌ها و اسیدهای چرب نیز اهمیت دارویی دارند (۱۱).

بر اساس تحقیق مریک و همکاران (۲۱)، برگ‌های گیاه آقطی قوی‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته و محتوی فنلی بالایی دارند.

تاکنون اثر ضدقارچی عصاره الکی گیاه آقطی بر قارچ *M. phaseolina* مطالعه نشده، اما اثر بازدارندگی عصاره الکی این گیاه روی قارچ عامل بیماری بلاست برنج (*Pyricularia grisea*) توسط احمدی و همکاران اثبات گردید (۱). اثر ضدقارچی عصاره الکی گیاهان اکالیپتوس، خرزهره، سیر، چریش و آکاسیا و چند گونه از *Chenopodium* دربرابر قارچ *M. phaseolina* توسط محققین

آل‌عابد و همکاران (۳) نیز در مشاهدات خود، وجود مواد مؤثره قارچ‌کش در عصاره گیاهان را متأثر از چندین فاکتور از جمله روش استخراج، سن گیاه، زمان برداشت مواد گیاهی و حلال‌های استخراج کننده، اعلام داشتند. در بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره آبی و الکی گیاهان چریش و زیتون تلخ علیه قارچ *M. phaseolina* مشخص شد، عصاره الکی نسبت به عصاره آبی فعالیت ضدقارچی مؤثرتری دارد. طبق نظر ایشان، تفاوت در میزان بازدارندگی عصاره آبی و الکی، به دلیل متفاوت بودن میزان حلالیت ماده (مواد) مؤثره گیاه در حلال آبی و الکی است (۱۴). مازندرانی و همکاران (۲۰) نیز مهم‌ترین مواد مؤثره گیاه آقطی را ترکیب‌های فلاونوئیدی، فنلی و آنتوسیان‌ی دانستند که بیشتر این ترکیبات، محلول در الکل‌اند. به نظر می‌رسد، این نتایج با یافته‌های حاصل از این تحقیق مبنی بر پتانسیل بالای ضدقارچی عصاره الکی نسبت به عصاره آبی هم‌خوانی دارد.

اثر ضدقارچی عصاره آبی گیاه آقطی نیز می‌تواند مربوط به ترکیبات گلیکوزیدی و محلول در آب باشد. با توجه به مطالعات مازندرانی و همکاران (۲۰)، چون این ترکیبات جزو مهم‌ترین ترکیبات ثانوی این گیاه نمی‌باشد، عدم مشاهده اثر ضدقارچی عصاره آبی نسبت به عصاره الکی قابل توجیه است.

طبق آنالیز انجام شده روی عصاره الکی برگ گیاه آقطی با استفاده از دستگاه GC-MS، ۲۷ ترکیب جداسازی شد که منو (۲- اتیل‌هگزیل) فتالات (۵۴/۳٪) بیشترین ماده جداسازی شده از این عصاره بود (جدول ۲). فتالات‌ها به‌طور طبیعی از ترکیبات مؤثره گیاهان هستند که خواص ضدقارچی، ضدتوموری و ضددیابتی دارند. از فتالات‌هایی دارای خواص ضدقارچی، دی‌ایزوبوتیل فتالات، دی‌بوتیل فتالات، هپتیل متیل فتالات و منو (۲- اتیل‌هگزیل) فتالات را می‌توان نام برد (۲). با توجه به اینکه بیشترین فراوانی مربوط به منو (۲- اتیل‌هگزیل) فتالات بود، احتمال می‌رود اثر بالای ضدقارچی عصاره الکی استخراجی می‌تواند مربوط به این ترکیب باشد (جدول ۲).

اسیدهای چرب و مشتقات آنها فعالیت‌های ضدباکتریایی و ضدقارچی دارند که نقطه اثر آنها بر روی غشای سلولی قارچ‌هاست. این مواد موجب آبگونی غشای سلولی و در نتیجه، خروج ترکیبات درون سلولی و در نهایت موجب مرگ سلول می‌شوند (۸). در تحقیق حاضر پالمیتیک اسید (۸/۲۴٪)، آلفا لینولنیک اسید (۷/۷۸٪)، ایزو والریک اسید (۴/۳۳٪)، ۱۴- متیل- پنتا دکانوئیک اسید، متیل استر (۰/۸٪)، هگزا دکانوئیک اسید، اتیل استر (۰/۳۳٪)، ۹،۱۲- اکتا دکانوئیک اسید، متیل استر (۰/۳۶٪)، ۹،۱۲،۱۵- اکتا دکانوئیک اسید، متیل استر (۰/۹٪)، ۹،۱۲- اکتا دکانوئیک اسید (۱/۹۷٪)، اکتا دکانوئیک اسید (۱/۵۷٪) و ۹،۱۲،۱۵- اکتا دکانوئیک اسید، اتیل استر (۰/۳۳٪) که در مجموع حدود ۲۶/۶۱٪ از ترکیب‌های عصاره را

بازدارندگی ماده مؤثره این عصاره‌ها با ترکیبات شیمیایی مصنوعی مورد مقایسه قرار گیرد و ضمن بررسی کاربرد آنها در خاک و شرایط طبیعی، مطالعات بیشتری جهت تهیه فرمولاسیون‌های مناسب انجام شود تا ترکیبات مؤثر ضمن پایداری در شرایط خاک، بر قارچ عامل بیماری قابلیت تأثیر بالایی داشته باشند.

سیاسگزاری

از جناب آقای دکتر رعیت‌پناه به جهت در اختیار گذاشتن جدایه قارچ بیماری‌زا و از دانشگاه پیام نور مرکز بابل به خاطر فراهم نمودن امکانات و فضای آزمایشگاهی مناسب جهت انجام این تحقیق، قدردانی می‌گردد. این مقاله حاصل طرح پژوهشی در قالب طرح گرانت با عنوان "تأثیر بازدارندگی عصاره‌های گیاه آقطی بر رشد قارچ *Macrophomina phaseolina* و استخراج مواد مؤثره آنها" می‌باشد که با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه پیام نور استان مازندران انجام شده است.

مختلف به اثبات رسید (۷، ۱۲، ۱۶، ۱۷ و ۲۸).

اثر بازدارندگی عصاره آبی گیاه آقطی بر قارچ *M. phaseolina* نیز تاکنون مطالعه نشد، اما اثر ضدقارچی عصاره آبی سه گیاه دارویی آویشن، نعنای و رازیانه و همچنین چریش و زیتون تلخ، بر رشد قارچ *M. phaseolina* (عامل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا) به اثبات رسید (۴ و ۲۳). اثر ضدقارچی عصاره آبی گیاهان چریش، زیتون تلخ و سیر بر قارچ *Fusarium oxysporum f.sp.Lycopersici* (عامل پژمردگی گوجه‌فرنگی) ثابت شد (۱۵).

از آنجا که قارچ *M. phaseolina* به صورت اسکروت در خاک بسیار پایدار است و با توجه به اینکه عصاره الکلی گیاه آقطی، بازدارندگی خوبی در برابر تشکیل اسکروت نشان داد، بنابراین پس از آزمایشات مزرعه‌ای جهت کنترل این قارچ خاکزاد قابل پیشنهاد به کشاورز است.

استفاده از عصاره، در صورتی که اثرات ضدقارچی مؤثر و قابل مقایسه با ترکیبات شیمیایی مصنوعی داشته باشد، می‌تواند جایگزین مناسبی جهت قارچ‌کش‌های سنتزی باشد. لذا پیشنهاد می‌شود، اثرات

منابع

- Ahmadi S.B., Jalili Sendi J., Khodaparast S.A., Ghadamyari M., Hasanzadeh N., and Padasht dehkaee F. 2007. Comparison of some plant extracts with Edifenphos and Tricyclazole fungicides on the control of rice blast disease agent in field condition. *Journal of Agricultural Researches*, 7(4): 133-142.
- Akpuaka A., Ekwenchi M.M., Dashak D.A., and Dildar A. 2012. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) Analysis of Phthalate Isolates in n-Hexane Extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) Leaves. *Journal of American Science*, 8(12): 146-155.
- Al-Abed A.S., Qasem J.R., and Abu-Blan H.A. 1993. Antifungal effect of some common wild plant species on certain plant pathogenic fungi. *Dirasat (Pure Applied Science)*, 20: 149-158.
- Ashraf H., and Javid A. 2007. Evaluation of antifungal activity of *Meliaceae* family against *Macrophomina phaseolina*. *Mycopath*, 5(2): 81-84.
- Askari F., Sharifi Ashorabadi E., Mirza M., Teimouri M., and Ehsani E. 2014. Chemical composition and antimicrobial effects of the essential oil of *Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak from different localities. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(5): 756-770.
- Behdad M., Etemadi N.A., Behdad E., and Zeinali H. 2013. Antifungal effect of three plant essential oils against *Rhizopus stolonifer*, the cause of soft rot on strawberry fruit. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(2): 399-411.
- Channa A.R., Jiskani M.M., and Nizamani Z.A. 2008. Effect of plant extracts on yield and mortality of plants due to root rot caused by *Macrophomina phaseolina*. *Pakistan Journal of Agriculture Science*, 24(2): 40-45.
- Carolina H.P., Kock J.L.F., and Thibane V.S. 2011. Antifungal free fatty acids: A Review: 61-71. In Méndez-Vilas A., (Eds.). *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, Microbiology Series, 2(3), Spain: Formatex, 691p.
- Chirigu L., Bubulica M.V., and Chirigu R.G. 2010. GC-MS Analysis of Chemical Compounds from Stems of *Sambucus Ebulus* L. *Acta Medica Marisiensis*, 56(6): 522-525.
- Chirigu L., Chirigu R.G., Tircomnicu V., and Bubulica M.V. 2011. GC-MS analysis of chemical composition of *Sambucus ebulus* leaves. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(1):126-127.
- Chirigu L., Bubulica M.V., and Averl L.M.E. 2012. Investigations of Three Phytopharmaceutical Products from Caprifoliaceae Family Using GC-MS and LC-MS. *Revista De Chimie*, 63(8): 764-768.
- Dwivedi R.S., and Dubey R.C. 2009. Effects of volatile and non-volatile fractions of two medicinal plants on germination of *Macrophomina phaseolina*. *Transactions of the British Mycological Society*, 87(2): 326-328.
- Ghesmati M. 2007. Investigation of antibacterial activity of *sambucus ebulus* on *staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biology Science*, 1(3): 73-82.
- Gujar J., and Talwankar D. 2012. Antifungal activity of leaf extract on growth of *Macrophomina phaseolina*

- on soyabean seed. Indian Streams Research Journals, 2(6): 1116.
- 15- Hadian S.H., Shamloo P., Monazm K., and Khandooz E. 2011. Effect of some aqueous plant extracts against *Fusarium oxysporum f.sp.Lycopersici* causal agent of tomato. Journal of Plant Science Researches, 21(6): 68-77.
 - 16- Javid A., and Amin M. 2009. Antifungal activity of methanol and n-hexan extracts of three *Chenopodium* species against *Macrophomina phaseolina*. Natural Products Research, 23(12): 1120-1127.
 - 17- Javid A., and Rehman H. 2011. Antifungal activity of leaf extracts of some medicinal trees against *Macrophomina phaseolina*. Journal of Medicinal Plants Research, 13: 2868-287.
 - 18- Lin D., and Suzuki E. 2003. Effect of methanol extracts from *Ophiopogon japonicus* rice blast fungus. Pest Science and Management, 28(2): 27-28.
 - 19- Mashhadian N.V., and Rakhshandeh H. 2005. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S.aureus*, *P.aeruginosa* and *C.albicans*. Pakistan Journal of Medicinal Science, 21(1): 47-52.
 - 20- Mazandarani M., Jamshidi M., and Azad A. 2011. Investigation of secondary metabolites of *Sambucus ebulus* L. in two natural regions of Mazandaran province, North of Iran. Journal of Plant Science Researches, 21(6): 58-67.
 - 21- Meric Z.I., Bitis L., Birteksoz-Tan S., Turan S., and Akbuga J. 2014. Antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic activities of *Sambucus ebulus* L. flowers, fruits and leaves. Marmara Pharmaceutical Journal, 18(1): 22-25.
 - 22- Pandey D.K., Tripathi N.N., Tripathi R.D., and Dixit S.N. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptic sauceolens*. Pflkrankh Pflschutz. 89: 344-349.
 - 23- Rahnema K., Montazernia B., and Hemati KH. 2008. Antifungal effects of some medicinal plants on *Macrophomina phaseolina* in-vitro. Journal of Plant Protection and Food, 3(4): 46-52.
 - 24- Raman V., La S., Saradhi P., Rao N., Krishna N.V., Sudhakar M., and Radhakrishnan T.M. 2012. Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of *Eupatorium odoratum*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 5(2): 99-106.
 - 25- Rayatpanah S., and Alavi S.V. 2006. Study on soybean charcoal rot disease in Mazandaran. Journal of Agricultural Sciences Natural Resources, 13(3): 107-114.
 - 26- Sayad S., Hassanzadeh N., Ghasemi A., and Nazerian E. 2013. The management of soft rot disease of syngonium caused by *Pectobacterium carotovorum* using some essential oils and antibiotics under laboratory and greenhouse conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 28(4): 730-740.
 - 27- Sing R., Dar S.A., and Sharma P. 2012. Antibacterial activity and toxicology evaluation of semi purified hexan extract of *Urtica dioica* leaves. Research Journal of Medicinal Plant, 6(2): 123-135.
 - 28- Usha R., Udayakumar R., and John D. 2009. Bio-efficacy of plant extracts and bio-control agents against *Macrophomina phaseolina*. Annual Plant Protection Science, 17(2): 389-393.
 - 29- Wendlbo P., and Rechinger K.H. 1987. Flora Iranica. Graz, Akademische Druck-und Verlagsanstalt.