مقاله پژوهشی
یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۸، شماره ۴، صفحات ۲۹۷ الی ۳۰۶ (۱۴۰۰)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

Research Article
Nova Biologica Reperta 8(4): 297-306 (2022)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.8.4.297

ارزیابی خواص فیتوشیمیایی و پتانسیل ضدقارچی عصاره‌های آبی و متانولی لاله هفت رنگ

ویدا تفکری
گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
مسئول مکاتبات: : ویدا تفکری، TafakoriV@khu.ac.ir

چکیده. هدف از این پژوهش، ارزیابی خواص فیتوشیمیایی و ظرفیت ضدقارچی عصاره‌های آبی و متانولی گل لاله هفت رنگ، علیه گونه‌های مختلف مخمری و کپکی است. به این منظور، گل‌های تازه آسیاب شدند و سپس به مدت یک شب در متانول و آب خوابانده شدند و سپس عصاره‌ها مورد ارزیابی در تست‌های متنوع قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عصاره‌ها ترکیبات فیتوشیمیایی مختلفی مانند ترپنوئید، تانین، فلاوونوئید، الکالوئید و فلوباتانین داشتند. پس از تبخیر حلال، فعالیت ضدقارچی عصاره‌های تغلیظ شده از طریق روش انتشار از چاهک روی *Candida albicans*، *Trichosporon asahii*، *Yarrowia lipolytica*، *Aspergilus niger* و *Fusarium oxysporum* مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشانگر آن بود که عصاره‌ها بر مخمرها و کپک‌ها به‌جز *Aspergilus niger* اثر داشتند. به منظور تعیین حداقل غلظت مهار کننده و حداقل غلظت کشنده، تست‌های ضدمیکروبی در میکروپلیت‌ها انجام شدند. عصاره متانولی نسبت به عصاره آبی اثرات ضد قارچی بیشتری نشان داد. بنابراین عصاره‌های این گیاه می‌توانند به‌عنوان منبعی برای عوامل ضدقارچی معرفی گردند.

واژه‌های کلیدی. : آلکالوئید، حداقل غلظت کشنده، حداقل غلظت مهارکننده، فنل، قارچ کش

Evaluation of phytochemical characterizations and antifungal potency of aqueous and methanolic extracts of *Tulipa biflora*

Vida Tafakori
Department of Cell and Molecular Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran. Iran.
Correspondent Author: Vida Tafakori, TafakoriV@khu.ac.ir

Abstract. The purpose of this study was to evaluate phytochemical characterizations and the in vitro antifungal capacity of the aqueous and methanolic extracts of the flower of *Tulipa biflora* Pall., against various yeast and mold species. For this purpose, fresh flowers were grinded and then macerated in methanol and water overnight, the resulted extracts were then evaluated by various tests. The results indicated that the extracts had different phytochemical components such as terpenoids, tannins, flavonoids, alkaloids, phenols, and phlobatannins. After the evaporation of solvents, antifungal activities of the concentrated extracts were evaluated by the well-diffusion method on *Candida albicans, Trichosporon asahii, Yarrowia lipolytica, Aspergilus niger and Fusarium oxysporum.* The results showed that the extracts were effective on yeasts and mold species studied except for *Aspergilus niger*. In order to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum biocidal concentration (MBC) of the extracts, anti-microbial tests were performed in micro-plates. The methanolic extract had more antifungal effectsthan that in the aqueous extract. Therefore, the extract of *Tulipa biflora* could be introduced as a source for antifungal agents.

Key words. alkaloid, fungicides, MBC, MIC, phenol

Received 12.07.2021/ Revised 14.09.2021/ Accepted 23.09.2021/ Published 20.01.2022
دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۱/ اصلاح: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳/ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۰۱/ انتشار: ۱۴۰۰/۱۰/۳۰

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

مقدمه

میکروب کش‌های طبیعی، از دیرباز به منظور افزایش سطح سلامت انسان و محصولات کشاورزی به کار رفته اند و موفقیت علوم پزشکی مدرن و نیز کشاورزی، تا حد زیادی به داروهایی که از منابع طبیعی به‌دست می‌آیند، وابسته است. در گذشته، تعداد زیادی از ترکیبات ضد میکروبی که از محصولات طبیعی به‌دست می‌آمدند به‌عنوان میکروب‌کش مانند قارچ‌کش، استفاده می‌شدند. بهرحال ظهور میکروارگانیسم‌های مقاوم به انواع داروها، کارایی این عوامل را از بین برده‌است. بنابراین یافتن منابع جدید یا ساخت ترکیبات جدید، گزینه اجتناب ناپذیر در سال‌های اخیر برای مبارزه با این میکروارگانیسم‌ها بوده‌است (Kebede et al., 2021; Al Aboody & Mickymaray, 2020). اتحادیه اروپا، در حال تغییرات منظمی در راستای حذف قارچ کش‌ها از زنجیره مصرف است، چرا که این ترکیبات روی اکوسیستم و انسان، تاثیر سوء دارند. بنابراین جایگزین کردن ترکیبات موثر دیگری که سازگار با بدن انسان (سمیت کمتر) و محیط زیست باشند، کاملا ضروری است (Sempere-Ferre et al., 2021). به دلیل عوارض کم داروهای گیاهی، متخصصین عفونی تمایل زیادی به استفاده از این داروها جهت درمان عفونت‌ها دارند (Sharafati-Chaleshtori et al., 2010) به گونه‌ای که استفاده از گیاهان و ترکیبات آنها به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی مورد توجه قرار گرفته‌است (Frey & Meyers, 2010; Pirnia et al., 2014). بسیاری از مطالعات نشان داده‌است که گیاهان دارویی دارای ترکیبات مختلفی مانند فلاوونوئیدها، فنل‌ها، آلکالوئیدها، کومارین‌ها، ترپنوئیدها، تانین‌ها، اسانس‌ها، لکتین‌ها، پلی پپتیدها و پلی ستیلن‌ها هستند (Parvin et al., 2014; Valli et al., 2012; Edeoga et al., 2005). این ترکیبات زیست فعال به‌عنوان نقطه آغاز ساخت آنتی‌بیوتیک‌ها، در راستای درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شوند (Rahman & Anwar, 2007). تا کنون گیاهان مختلفی در طب سنتی استفاده شده‌اند. برخی از این گیاهان از جمله گیاهان زینتی هستند و برخی نیز جزء گیاهان خودرو محسوب می‌گردند.

نام «گل لاله» از کلمه لال یا همان کلمه لعل از زبان سانسکریت به معنی «قرمز» گرفته شده‌است. واژه لاله امروزه به گل‌های پیازداری گفته می‌شود که نام علمی آنها *Tulipa* و از راسته سوسن سانان از تیره سوسنیان هستند. رویشگاه اصلی آنها اروپا، آسیای مرکزی و غربی و شمال آفریقا است. از این سرده در حدود ۲۲ گونه در ایران شناخته شده است که پراکنش آنها بیشتر در شمال غرب، شرق و مرکز ایران است. لاله ها گیاهانی پیازی هستند که پیاز آن‌ها دارای تونیک و یا لایه پوشینه چرم مانندی به رنگ غالباً قهوه‌ای است. برگ‌ها به صورت خطی، تخم مرغی یا بیضوی هستند. اغلب در انتهای ساقه، یک گل و به ندرت دو تا سه گل رویش دارد. گل‌ها تقریبا منظم و بندرت یک خال در گلپوش داخلی به رنگ ارغوانی، زرد یا سفید دیده می‌شود. گل‌ها دارای شش پرچم، فاقد گلپوش منقسم، میله پرچم کم و بیش پهن، تخمدان سه حجره، کلاله دارای سه شکاف، میوه کپسول و سه‌خانه‌ای است (Wendelbo, 1976; Asgari et al., 2020; Ghahreman et al., 2007).

لاله هفت رنگ بومی نواحی خزری و قفقاز بوده و غالباً تا ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر رشد می‌کند. این لاله دارای پیاز کوچکی است که حدود سه سانتی متر قطر دارد. رنگ گل آن سفید و در قسمت مرکز، زرد رنگ است. بخش‌های بیرونی سبز تیره و گلبرگ‌های داخلی با خطوط سبز، برگ‌ها به طول ۱۲ سانتی متر و عرض ۸ سانتی متر هستند. مدت زمان برگدهی تا پژمردگی همه برگ‌ها از اواسط اسفند تا اواخر اردیبهشت، مدت زمان گلدهی، از اواسط فروردین تا اوایل اردیبهشت و مدت زمان رسیدن دانه‌ها از اوایل اردیبهشت تا اواخر خرداد است (Smith, 1940). تاکنون هیچ مطالعه‌ای جهت بررسی عصاره‌های این گیاه و اثر آنها روی میکروارگانیسم‌های مختلف انجام نگرفته است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضد قارچی عصاره آبی و متانولی گل گیاه لاله هفت رنگ و نیز بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی آن است.

مواد و روش‌ها

جمع آوری و شناسایی لاله هفت رنگ (*T. biflora*)

با توجه به اینکه هدف از این پژوهش بررسی اثر عصاره بخش گل از گیاه لاله هفت رنگ بود، ۱۶ فروردین ماه ۱۴۰۰، این گیاه از منطقه جغرافیایی دشت‌های اطراف سد خاکی رودک در بوئین زهرا، با موقعیت "35°41'54.6"N 49°53'43.5 جمع آوری شد. سپس به منظور شناسایی، یک نمونه به صورت کامل خشکانده شد، شماره هرباریوم ۵۱۸۵۸ به آن اختصاص و به گیاکده دانشگاه خوارزمی (با آکرونیم T) تحویل داده شد.

نحوه عصاره‌گیری از بخش گل گیاه لاله هفت رنگ

عصاره‌گیری از گل‌های گیاه لاله هفت رنگ، طبق روش تغییر یافته محققین پیشین (Stankovi´c et al., 2016) انجام گرفت. به این منظور ابتدا گل‌های این گیاه جدا شده و چندین بار با آب معمولی آبکشی شدند. در نهایت یکبار نیز با آب مقطر آب‌کشی صورت گرفت. سپس ۱۰گرم از گل‌ها در هاون چینی کوبیده شدند به گونه‌ای که یک خمیر نرم از آن به‌دست آمد. در مرحله بعد عصاره‌گیری طبق روش مرسوم خیساندن انجام شد. به این منظور گل‌های کوبیده شده به مدت ۲۴ ساعت در ۷۵

سی‌سی متانول ۱۰۰ درصد و دمای اتاق قرار گرفتند. سپس مخلوط حاصل به مدت پنج دقیقه در g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول حاصل که حاوی عصاره متانولی گل ابریشم مصری است، زیر هود شیمیایی قرار گرفت تا حلال متانول کاملا تبخیر شود. وزن خشک به‌دست آمده تعیین و در آب حل شد به گونه‌ای که غلظت نهایی mg/ml ۱۴۸/۵ از عصاره به‌دست آید (Stankovi´c et al., 2016). سپس به منظور استریل شدن عصاره از فیلترهای سر سرنگی ۰/۲۲ میکرون استفاده شد. همه مراحل ذکر شده در بالا در مورد حلال آبی هم صورت گرفت. یعنی به جای متانول از ۲۰۰ سی‌سی آب به عنوان حلال جهت عصاره‌گیری از ۱۰ گرم خمیر گل لاله هفت رنگ استفاده شد. در مورد عصاره آبی غظت نهایی به‌دست آمده mg/ml ۱۶۳ به‌دست آمد. دلیل استفاده از مقدار بیشتر حلال آبی، این بود که ۱۰ گرم از خمیر حاصل از گل لاله هفت رنگ، در ۱۰۰ سی‌سی از حلال آب، به صورت محلول یک دست در نیامد. بنابراین به اندازه‌ای آب اضافه شد تا خمیر در حلال به صورت یکدست درآید.

سنجش‌های فیتوشیمیایی عصاره‌های متانولی و آبی

اغلب داروها یکسری ترکیبات شیمیایی خاص دارند که دلیل خواص زیستی و دارویی آنها هستند. تعیین کمی و کیفی ترکیبات فعال هر عصاره نیاز به مراحل مختلف خالص سازی و سنجش‌های مختلف دارد. اما در مرحله اول می‌توان با انجام یک سری از روش‌های شیمیایی، پروفایل کلی ترکیبات یک عصاره را به‌دست آورد. به این منظور وجود یا عدم وجود انواع ترکیبات در عصاره‌های گل گیاه لاله هفت رنگ مورد ارزیابی واقع شدند که در ذیل به آنها اشاره می‌گردد. برای تمامی تست‌ها یک نمونه بدون عصاره به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

۱- سنجش کیفی فنل: چند قطره از کلرید فریک ۰/۱ درصد به یک سی‌سیاز هر یک از عصاره‌ها افزوده شد. مشاهده تغییر رنگ سبز، آبی، بنفش یا قرمز قهوه‌ای، نشانه وجود فنل در محلول است (Kebede et al., 2021). ۲- سنجش وجود فلوباتانین: یک سی‌سیاز هر عصاره با چند قطره از محلول ۱ درصد اسیدکلریدریک جوشانده شد. ایجاد رسوب قرمز رنگ نشانه وجود فلوباتانین در محلول است (Aly et al., 2019). ۳- سنجش وجود فلاونوئید: به دو سی‌سی از هر عصاره، یک سی‌سی از محلول آمونیاک ۱ مولار اضافه می‌گردد. سپس یک سی‌سی از اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه می‌گردد. ظهور رنگ زرد قوی که پس از مدت کوتاهی ناپدید می‌شود، نشانه وجود فلاونوئید در عصاره است (Ezeonu & Ejikeme, 2016). ۴- سنجش وجود ترپنوئید: این ترکیبات جزء استرول‌ها هستند. معروف ترین تست سنجش فیتواسترول‌ها تست Salkowski است. برای انجام این تست، به سه سی‌سی از عصاره گیاهی، یک سی‌سی کلروفرم غلیظ و سپس به آرامی و از کنار ظرف یک سی‌سی اسید سولفوریک غلیظ، اضافه شد. اگر ظرف تکان داده نشود، لایه‌ها تشکیل می‌شوند. مشاهده رنگ قرمز- قهوه‌ای در مرز دو حلال، دال بر وجود ترپنوئیدها در عصاره گیاهی است (Aly et al., 2019). ۵- سنجش وجود آلکالوئید: معروف ترین تست برای سنجش آلکالوئیدها تست Mayer است. ابتدا معرف مایر به صورت تازه تهیه می‌گردد. ۱/۳۶ گرم از نمک کلرید جیوه در ۱۰۰ سی‌سی آب حل می‌شود سپس ۵ گرم از یدید پتاسم به آن اضافه می‌گردد. به یک سی‌سی از هر عصاره، ۵۰۰ میکرولیتر اسید کلریدریک رقیق ۲ درصد اضافه شد تا محلول اسیدی شود. سپس یک سی‌سی از معرف مایر به مخلوط حاصل افزوده شد. تشکیل رسوب زرد، کرم تا سفید رنگ نشانه حضور آلکالوئیدها در عصاره است (Pandey & Tripathi, 2014). ۶- سنجش وجود تانین: به هر سی‌سی از هر عصاره، یک سی‌سی از محلول ۱ درصد ژلاتین حاوی چند قطره از ۱۰ درصد سدیم کلرید اضافه گردید. تشکیل رسوب سفید رنگ نشان دهنده وجود تانین در عصاره است (Bele et al., 2010; Harborne, 2007). ۷- سنجش وجود آنتراکوئینون: به ۲ سی‌سی از هر عصاره، ۴ سی‌سی از اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و برای پنج دقیقه در بن ماری قرارداده شد. سپس سه سی‌سی از کلروفرم به مخلوط اضافه شد و هم زده شد. لایه کلروفرم کشیده شد و در یک تیوپ دیگر به صورت هم حجم، آمونیاک رقیق شده (۱۰ درصد) اضافه شد. تغییر رنگ به سمت صورتی روشن، نشان دهنده حضور آنتراکوئینون‌ها در عصاره‌هاست (Auwal et al., 2014). ۸- سنجش وجود ساپونین: برای سنجش حضور مواد ساپونین در عصاره روش‌های مختلفی وجود دارد. یکی از این روش‌ها تست کف است. یک سی‌سی از عصاره با ۴ سی‌سی از آب مقطر مخلوط شد و به شدت تکان داده می‌شود. اگر کفی که روی سطح تشکیل می‌شود به مدت ۱۰ دقیقه پایدار باشد نشانه حضور ساپونین‌ها در عصاره‌ها است (Pandey & Tripathi 2014).

قارچ‌های میکروسکوپی مورد استفاده و محیط‌های کشت

از دو دسته قارچ‌های میکروسکوپی به منظور بررسی خواص ضدقارچی عصاره گل لاله هفت رنگ استفاده شد. مخمرهای مورد استفاده عبارت بودند *Candidda albicans* (ATCC 1023)، *Trichospron asahii* (CBC 8904) و *Yarrowia lipolytica* (ATCC 18942) و قارچ‌های کپکی مورد استفاده عبارت بودند از *Aspergillus niger* (DSM 1957) و همچنین *Fusarium oxysporum* (DSM 62338). به منظور انجام آزمایشات مختلف گونه‌های قارچی روی محیط کشت سابروز دکستروز آگار یا براث،

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

کشت داده شدند (Ashraf et al., 2017). تمامی گونه‌های قارچی مورد استفاده در این پژوهش از طرف آقای دکتر حمید مقیمی، گروه میکروب شناسی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران، اهدا گردیدند.

غربال‌گری قارچ‌های حساس به عصاره‌های آبی و متانولی گل لاله هفت رنگ

به منظور غربال‌گری قارچ‌های حساس به عصاره‌های آبی و متانولی به‌دست آمده، از روش مرسوم انتشار در چاهک استفاده شد. گونه‌های مخمری به مدت یک شب در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و گونه‌های کپکی به مدت دو تا پنج روز در دمای۳۰ (برای *Fusarium*) و ۳۵ (برای *Aspergillus*) درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند تا تولید اسپور کنند. برای گونه‌های مخمری ابتدا سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند شامل10^6 cell/ ml × ۵-۱ تهیه شد. در مورد گونه‌های کپکی، طبق یک روش تغییر یافته از مقالات معتبر استفاده گردید (Santos et al., 2006; Lass-florl et al., 2006). به این منظور یک ورقه دستمال کاغذی استریل ضخیم روی سطح محیط کشت حاوی کپک قرار گرفت. سپس پنج سی‌سی از محلول سالین حاوی ۰/۱ درصد از توئین ۲۰ روی آن ریخته شد. اسپورهای کپکی بدون هیچ میسلیومی توسط سمپلر از خلال دستمال کاغذی کشیده شدند (شکل ۱) و پس از آنکه با مشاهده میکروسکوپی از عدم وجود میسلیوم در سوسپانسیون کشیده شده اطمینان حاصل شد، مقداری از آن جهت شمارش روی لام هموسیتومتر قرار گرفت. کدورت سوسپانسیون حاوی اسپور در حد 10^5 conidia/ ml × ۵-۲ تنظیم شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از اسپور مورد استفاده توسط سواب استریل روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار گسترده شد. پس از ۱۰ دقیقه که میکروارگانیسم‌ها کاملا جذب سطح محیط کشت شدند، توسط اپلیکاتور پلاستیکی استریل مانند تیپ، چاهک-هایی به قطر ۸-۶ میلی متر در شرایط استریل درون آگار تعبیه شد. سپس حجمی معادل ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های الکلی و آبی به دست آمده درون هر چاهک ریخته شد و پلیت به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا عصاره درون آگار منتشر شود. سپس بر حسب میکروارگانیسم مورد استفاده، پلیت به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای مناسب گرماگذاری می‌شود (Balouiri et al., 2016). چون عصاره گیاهی حاصل، حاوی انواع مختلفی از ترکیبات است و اغلب ترکیبات ضد میکروبی تنها درصد کمی از عصاره کل را در برمیگیرد، در برخی منابع هاله عدم رشد قابل مشاهده‌ای بزرگ‌تر از ۱ میلی‌متر از لبه چاهک را، قابل قبول اعلام می‌کنند (Tomova et al., 2015) به عنوان آنتی‌بیوتیک شاهد نیز داروی نیستاتین (Fluka) با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (Ginovyan et al., 2017)، استفاده شد. هر تست سه بار تکرار شد. یک چاهک نیز به‌عنوان شاهد برای حلال متانول، استفاده شد تا از عدم‌میکروب‌کشی این حلال، اطمینان حاصل شود.

تعیین حداقل غلظت بازدارنده و کشنده قارچی

پس از مشاهده هاله عدم رشد در مجاورت عصاره کامل گیاهی نوبت به تعیین حداقل غلظت بازدارنده و کشنده قارچی رسید. به این منظور در میکروپلیت ۹۶ خانه، که هر چاهک آن حاوی ۵۰ میکرولیتر سابروز دکستروز براث بود، سریال رقت‌های دو برابری از عصاره‌های گیاهی تهیه شد. به این منظور برای عصاره متانولی، گستره رقتی بین ۷۴/۲۵ -۰/۰۳۶ mg/ml و برای عصاره آبی گستره رقتی بین ۸۱/۵ -۰/۰۳۹ mg/ml تهیه شد. سپس از کشت گونه‌های قارچی مورد نظر، سوسپانسیون سلولی و اسپور طبق روش‌هایی که در بخش قبل ذکر شد، با کدورتی معادل نیم مک فارلند تهیه شد و از آن مقدار ۵۰ میکرولیتر وارد هر چاهک شد. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری شدند. یک چاهک از هر ردیف نیز به عنوان شاهد رشد بدون هیچ عصاره میکروبی در نظر گرفته شد. یک چاهک به‌عنوان شاهد استریل بودن، شامل محیط کشت بدون هیچ ماده ضدمیکروبی و قارچی، در نظر گرفته شد. ترکیب ضدقارچ نیستاتین با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به عنوان کنترل دارویی استفاده شد. همه تست‌ها با دو تکرار انجام گرفتند (Santos et al., 2006). پس از گذشت ۲۴ ساعت، حداقل غلظت بازدارنده به عنوان کمترین غلظتی از عصاره گیاهی که هیچ رشد قابل مشاهده‌ای از میکروارگانیسم در آن دیده نشد، در نظر گرفته شد (CLSI, 2018).

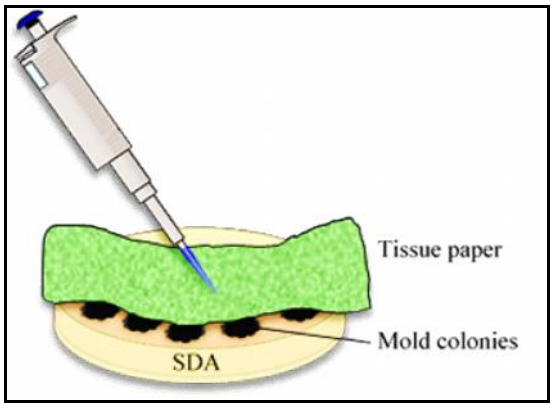
به منظور تعیین حداقل غلظت کشنده نیز، از رقت‌هایی که هیچ رشدی از میکروارگانیسم در آنها مشاهده نشد، بروی محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای مناسب گرماگذاری شد. حداقل غلظت کشنده به عنوان حداقل غلظتی از عصاره گیاهی که سبب کشته شدن ۹۹/۹ درصد از میکروارگانیسم‌ها می‌شود، تعریف می‌شود (CLSI, 2018).

نتایج

عصاره‌های متانولی و آبی گل لاله هفت رنگ

پس از انجام روند عصاره‌گیری که در بخش مواد و روش‌ها ذکر شد، عصاره‌های متانولی و آبی به‌دست آمده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گیرند. رنگ عصاره متانولی زرد و رنگ عصاره آبی، کرم رنگ بود. این نشان دهنده استخراج ترکیبات مختلف توسط حلال‌های مختلف از گل گیاه لاله هفت رنگ بود. شکل ۲ نشان دهنده این دو نوع عصاره است. نکته مهم دیگر این است که جرم خشک عصاره به‌دست آمده از این دو نوع حلال نیز با یکدیگر متفاوت بود.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]



شکل ۱- روش تهیه سوسپانسیون از اسپورهای قارچهای کپکی.

Figure 1. Suspension preparation method of the spore of molds.

تعیین ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره‌ها

پس از انجام تست‌های مختلف جهت تعیین ترکیبات مختلف فیتوشیمیایی در هر یک از عصاره‌های آبی و متانولی، نتایج طبق شکل ۳ به‌دست آمدند. همانطور که در شکل دیده می‌شود ترکیبات فنل، فلوباتانین و الکالوئید فقط در عصاره متانولی دیده شد و در عصاره آبی وجود نداشت. ترکیبات فلاوونوئید و ترپنوئید در هر دوی عصاره متانولی و آبی وجود داشت. ترکیب تانین فقط در عصاره آبی وجود داشت و در نهایت ترکیبات آنتراکوئینون و ساپونین در هیچ یک از عصاره‌ها وجود نداشت. بنابراین در کل متانول قدرت بیشتری در استحصال ترکیبات مختلف از گیاه لاله هفت رنگ را داشته است.

تعیین گونه‌های قارچی حساس

به این منظور از بیشترین غلظتی که از هر عصاره به دست آمده بود، یعنی ۱۴۸/۵ mg/ml برای عصاره آبی و ۱۶۳ mg/mlبرای عصاره متانولی، در مجاور مقدار خاصی از هر یک از گونه‌های مخمری و کپکی قرار گرفت. نتایج این غربالگری در شکل ۴ نشان داده شده‌است. گرچه وقتی از عصاره کامل یک منبع زیستی به‌عنوان عامل ضد میکروبی استفاده می‌شود، می‌بایست حتی تشکیل یک میلیمتر هاله عدم رشد از لبه چاهک را به‌عنوان اثرگذاری عصاره مورد نظر قلمداد کرد، تصمیم بر این شد تا قارچهایی که حداقل ۵ میلیمتر از لبه چاهک هاله عدم رشد می‌دهند انتخاب شوند تا در مرحله بعدی یعنی تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد، مشکل یافتن حداقل غلظت کشنده ایجاد نشود.

از میان قارچهای مورد استفاده هاله عدم رشد در اطراف عصاره متانولی برای *C. albicans*، *Y. lipolytica* و *F. oxysporum* مشاهده شد. در مورد قارچ مخمری *C. albicans* هاله عدم رشد از لبه چاهک، کمتر از ۵ میلیمتر فاصله داشت بنابراین این مخمر برای مرحله بعدی آزمایشات، انتخاب نشد. در مورد عصاره آبی، هاله عدم رشد برای*T. asahii*، *Y. lipolytica* و *F. oxysporum* مشاهده شد. هیچ یک از عصاره‌ها روی قارچ کپکی *A. niger* اثری نداشتند. میانگین قطر هاله اندازه‌گیری شده از لبه چاهک مربوط به سه تکرار، برای هر یک از قارچهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده‌است. همان گونه که مشاهده می‌شود عصاره متانولی هم بر تعداد بیشتری از گونه‌های قارچی مورد استفاده اثر داشته‌است و هم هاله‌های عدم رشد بزرگتر هستند. این درحالی است که غلظت عصاره آبی که استفاده شده بود بیشتر از غلظت عصاره‌های متانولی بود.

حداقل غلظت مهار کننده و کشنده از عصاره متانولی و آبی گل گیاه لاله هفت رنگ

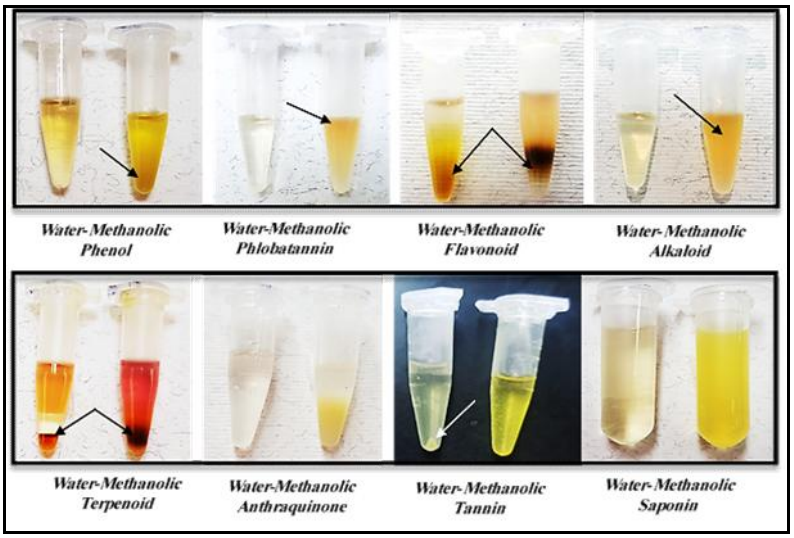
به منظور تعیین این غلظت، سریال رقتی از عصاره‌ها با محیط کشت سابروز دکستروز براث تهیه شد. چاهکی از میکروپلیت که در آن هیچ رشدی مشاهده نشد، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکننده در نظر گرفته شد. نتایج خوانش حداقل غلظت مهار کننده، برای گونه‌های مخمری *Y. lyptolitica* و *T. asahii* و نیز گونه کپکی *F. oxysporium* در جدول ۲ جمع آوری شده‌است. طبق اطلاعات موجود در جدول ۲ می‌توان گفت، عصاره متانولی در اغلب موارد با غلظت کمتری سبب مهار رشد گونه‌های قارچی مورد استفاده شده‌است.

براساس غلظت‌های به‌دست آمده که سبب مهار رشد گونه‌های قارچی شده بودند، تعیین حداقل غلظت کشنده انجام گرفت. همانگونه که از مقایسه جدول ۲ و ۳ مشاهده می‌شود، برای عصاره متانولی در مورد مخمر *T. asahii* و کپک *F. oxysporium*، حداقل غلظت مهارکننده و کشنده با هم برابر بودند. برای عصاره آبی نیز در مورد کپک *F. oxysporium* این برابری مشاهده می‌شود. در سایر موارد غلظت کشنده دو برابر غلظت مهار کنندگی است.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

شکل ۲- عصاره‌های آبی (سمت راست) و متانولی (سمت چپ) از گل گیاه لاله هفت رنگ

Figure 2. Water extract (right) and methanolic extract (left) of the flowers of *T.biflora*.



شکل ۳- ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره‌های آبی (سمت چپ) و متانولی (سمت راست) گل لاله هفت رنگ.

Figure 3. Phytochemical compounds in aqueous and methanolic extracts of the flowers of *T. biflora*.

جدول ۱- میانگین هاله عدم رشد برای قارچهای میکروسکوپی مورد استفاده.

Table 1. The mean of inhibition zone for used microscopic fungi.

Fungi	The mean of inhibition zone for water extract (mm+SD)	The mean of inhibition zone for methanolic extract (mm+SD)
C.albicans	0	10 ±0.5
T.asahii	Too large, Overlapping zone	Too large, Overlapping zone
Y.lyptolitica	Large, Overlapping zone	Large, Overlapping zone
A.niger	0	0
F.oxysporium	1.8±0.5	2.1 ±1

جدول ۲- حداقل غلظت بازدارنده عصاره‌های آبی و متانولی برای گونه‌های قارچی حساس.

Table 2. MIC of water and methanolic extracts for susceptible fungal species.

Fungi	MIC for water extract (mg/ml)	MIC for methanolic extract (mg/ml)
T.asahii	**1.273**	**1.160**
Y.lyptolitica	**10.18**	**4.64**
F.oxysporium	**5.09**	**4.64**

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

جدول ۳- حداقل غلظت کشنده عصاره‌های آبی و متانولی برای گونه‌های قارچی حساس.

Table 3. MBC of water and methanolic extracts for susceptible fungal species.

Fungi	MBC for water extract (mg/ml)	MBC for methanolic extract (mg/ml)
T.asahii	2.54	1.160
Y.lyptolitica	20.37	9.28
F.oxysporium	5.09	4.64

بحث

امروزه ساخت ترکیبات سنتتیک و نیز جستجو برای یافتن محصولات طبیعی که از ارگانیسم‌های زنده مانند گیاهان به‌دست می‌آیند، منابع عمده برای تامین مواد زیست فعال جدید محسوب می‌گردند تا به کمک آن بتوان مشکل میکروارگانیسم‌های بیماریزا را حل کرد. نکته جالب این است که ۸۰ درصد از جمعیت جهان، به منظور رفع نیازهای اولیه سلامت خود، به درمان‌های سنتی متکی هستند. بهرحال تاکنون کمتر از یک درصد از از گیاهان از نظر متابولیت های ثانویه، ترکیبات فیتوشیمیایی یا مواد دارویی شناسایی شده‌اند (Kebede et al., 2021; Ahmad & Shahnawaz, 2017). بر این اساس در این پژوهش تصمیم براین شد تا از یکی از گیاهانی که به صورت خودرو در مناطقی از ایران رویش دارد به‌عنوان منبع جستجو برای یافتن ترکیبات ضدقارچی مناسب استفاده شود.

پس از عصاره‌گیری از گل گیاه لاله هفت رنگ، عصاره‌های متانولی و آبی دارای رنگ‌های مختلفی بودند. رنگ متفاوت و همچنین وزن متفاوت این عصاره‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت در ترکیبات استخراج شده توسط حلال‌های مختلف باشد. البته این فرضیه با سنجش‌های ترکیبات فیتوشیمیایی قوت گرفت. چرا که برخی از ترکیبات فقط در عصاره آبی و برخی فقط در عصاره متانولی موجود بودند. ترکیبات فنل، فلوباتانین و آلکالوئید فقط در عصاره متانولی دیده شدند. ترکیب تانین فقط در عصاره آبی وجود داشت و ترکیبات فلاوونوئید و ترپنوئید در هر دو عصاره متانولی و آبی دیده شد. به طور کلی گیاهان عالی‌تر می‌توانند منبع عمده متابولیت‌های ثانویه باشند. در این گیاهان بیش از ۱۲۰۰۰ نوع آلکالوئید، ۲۵۰۰۰ نوع ترپنوئید و ۸۰۰۰ نوع ترکیب فنلی شناسایی شده‌است (Radulovic et al., 2013). پژوهش‌های دیگر که روی گونه‌ها و نژادهای مختلف لاله انجام شده‌است نیز، نشان دهنده حضور ترکیبات مختلفی مانند فنل‌ها در این گیاه است.

برای مثال در پژوهشی که روی گل پنج کولتیوار مختلف از لاله *Tulipa gesneriana* انجام شد، مشخص شد تمامی آنها دارای ترکیبات فنلی مختلف با مقادیر مختلف هستند (Krzyminska et al., 2020). محققین روی ۱۶۵ گونه از لاله‌های واژگون بومی مناطق مختلف ایران، پژوهش کردند و موفق شدند پنج دسته اصلی از آلکالوئیدها را در آنها پیدا کنند (Kiani et al., 2015). با توجه به خواص ضدقارچی که عصاره‌های گل لاله هفت رنگ نشان داد، می‌توان این خواص را به ترکیبات مختلف موجود در آن نسبت داد. طبق مطالعاتی که روی ترکیبات خالص فنلی انجام شده‌است، مشخص شده‌است که این ترکیبات در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم در سی‌سی) اثر قارچ کشی و مهار کنندگی روی دو قارچ *Botryotinia fuckeliana* و *Rhizoctonia solani* دارند. این دو قارچ کپکی جزء قارچ‌های بیماریزای گیاهای محسوب می‌شوند (Sempere-Ferre et al., 2021). مکانیسم ضدقارچی ترکیبات تک فنلی، به قدرت تشکیل اتصالات قوی با پروتئین‌ها و گلیکوپروتئین‌ها و در نتیجه اختلال در عملکرد آنها نسبت داده شده‌است (Simonetti et al., 2020). در پژوهشی دیگر عصاره‌های مختلف خالص فنلی، روی چهار گونه مختلف *C. albicans*، *C. krusei*، *C. tropicalis* و *C. dubliniensis* اثر داده شدند (Gallucci et al., 2013). هر چهار گونه، به قارچ کش قوی فلوکونازول مقاوم بودند اما این ترکیبات فنلی توانستند اثرات بسیار موثری بر این قارچها نشان بدهند. در این پژوهش مشخص شد که مکانیسم اثرات ضدقارچی این ترکیبات روی گونه‌های مختلف *Candida* مربوط به اندرکنش آن‌ها با غشاء سیتوپلاسمی و میتوکندریایی است. اثرات ضد قارچی عصاره‌های طبیعی دارای ترکیبات فنلی نیز در پژوهش‌های مختلفی تایید شده‌است. برای مثال در مقاله مروریی که در این راستا نوشته شده‌است، ذکر گردیده‌است که این ترکیبات فعالیت‌های امیدوارکننده‌ای علیه گونه‌های جنس *Candida* از خود نشان داده‌اند و امید است که بتوانند به صورت خالص یا ترکیب با سایر ترکیبات داروی مورد مصرف قرار بگیرند (Teodoro et al., 2015).

یک ترکیب آلکالوئیدی به نام Berberine hydrochloride، خواص ضد قارچی روی مخمر *C.albicans* که جزء بیماری زاهای فرصت طلب در انسان است، دارد (Noguti et al., 2016). مشکل اصلی در مورد کاربرد آلکالوئیدها در پزشکی، عوارض قلبی و سمیت سلولی است که ایجاد می‌کنند که البته

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

وابسته به دوز است (Akinboye & Bakare, 2011). هر دو ترکیبات فنلی و آلکالوئیدی در عصاره‌های متانولی گل لاله هفت رنگ موجود بودند. بنابراین می‌توان بخشی از اثرات ضدقارچی این عصاره را به وجود این ترکیبات نسبت داد. احتمالا عدم حضور این ترکیبات در عصاره آبی سبب شده تا روی مخمر *Candida* اثر نداشته باشد.

تانین‌ها ترکیبات پلی فنلی هستند که خواص ضد قارچی قوی و شناخته شده‌ای دارد. این ترکیبات روی *C.albicans* و *Aspergillus niger* اثر داشته‌اند و گزارشات نشانگر آن است که این ترکیبات، اثرات مهاری روی رشد، تشکیل بیوفیلم و اتصال به سطح در *C.albicans* دارد. مکانیسم عمل ضدقارچی تانین‌ها به تخریب دیواره و غشای سلولی توسط آنها نسبت داده شده‌است (Zhu et al., 2019). این ترکیب قوی در عصاره آبی گل لاله هفت رنگ موجود بود و می‌توان بخشی از اثرات ضدقارچی این عصاره را به وجود این ترکیب نسبت داد.

مکانیسم ضدقارچی ترپنوئیدها نیز روی *Saccharomyces cerevisiae* بررسی شد و به استرس کلسیمی و مسیرهای اصلی تغذیه و رشد نسبت داده شد (Rao et al., 2010). فلاوونوئیدها نیز ترکیبات پلی فنلی هستند که از مسیرهای مختلفی می‌توانند اثرات ضدقارچی خود را اعمال کنند. تخریب غشای سیتوپلاسمی، القای سوء عملکرد میتوکندری، مهار تشکیل دیواره، تقسیم سلولی، سنتز پروتئین و RNA و تاثیر بر پمپ‌های غشائی از جمله این مسیرها هستند. اثرات ضدقارچی فلاوونوئیدها بر گونه‌های مختلف مخمری مانند گونه‌های مختلف کاندیدا و گونه‌های مختلف کپکی مانند گونه‌های مختلف آسپرژیلوس گزارش شده‌است (Al Aboody & Mickymaray, 2020). هر دوی این ترکیبات ترپنوئیدی و فلاوونوئیدی در عصاره‌های آبی و متانولی گل لاله هفت رنگ، وجود دارند.

با توجه به جداول مربوط به MIC و MBC می‌توان نتیجه گرفت که عصاره متانولی در غلظت‌های کمتری نسبت به عصاره آبی اثرات ضدقارچی داشته‌است. این نتایج می‌تواند ناشی از حضور ترکیبات شیمیایی ضدمیکروبی بیشتر در این ترکیب نسبت به ترکیب آبی باشد. بهرحال با توجه به اینکه هر یک از ترکیبات موجود در گیاه می‌تواند یکسری مکانیسم‌های ضدقارچی را فعال کند، استفاده از عصاره کامل بر ترکیبات خالص ارجحیت خواهد داشت. محققین با انجام پژوهشی روی *Tulipa systola* Stapf مربوط به ناحیه کردستان عراق انجام دادند عصاره اتانولی گل این گونه از لاله نیز دارای ترکیبات مختلفی مانند فنل، آلکالوئید، فلاوونوئید، ترپنوئید و تانین بود (Ibrahim et al., 2016). این عصاره خواص ضد باکتریایی قوی روی هر دو دسته باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نشان داد. میوه درخت نان صحرائی (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) که مربوط به نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری است، منبع مهمی برای ترکیبات فیتوشیمیایی مانند فنل، فلاوونوئید و تانین‌ها است. همچنین مشاهده شده‌است که عصاره فنولی این میوه می‌تواند با درجات مختلفی مانع از رشد میسلیوم در قارچ‌های کپکی (۲۰ – ۱۴ درصد) *Penicillium digitatum*، (۵۶-۵۵ درصد) *Geotrichum candidum*، (۷۲–۶۷ درصد) *Aspergillus niger*، (۱۰۰ درصد) *Botrytis cinerea* گردد (Chavez-Santiago et al., 2021).

نتیجه گیری

براساس پژوهش حاضر، عصاره‌های گل لاله هفت رنگ بر روی مخمرهای مهم و فرصت طلبی مانند *C. albicans*، *T. asahii*، *Y. lyptolitica* که در انسان مولد بیماری هستند و نیز قارچ کپکی مانند *F. oxysporum* که از بیماریزاهای مهم گیاهی محسوب می‌گردد موثر هستند. بنابراین می‌توان این گل را به عنوان منبع مهمی جهت استخراج ترکیبات ضد قارچی با کاربرد در پزشکی و کشاورزی معرفی کرد. البته قطعا به منظور جداسازی و شناسائی ترکیبات ضد میکروبی موجود در این عصاره باید تحقیقات گسترده‌تری صورت پذیرد. نکته بسیار حائز اهمیت دیگر در مورد این گیاه این است که به هیچ عنوان برروی خواص ضدقارچی بخش‌های مختلف آن پژوهش نشده‌است و این می‌تواند بستری مناسب برای مطالعات آینده باشد.

سپاسگزاری

نویسنده این مقاله از گیاهکده دانشگاه خوارزمی و دکتر حمید مقیمی از گروه میکروب شناسی دانشکده زیست شناسی دانشگاه تهران تشکر و قدردانی می‌نماید.

REFERENCES

Ahmad Dar, R. & Shahnawaz, M. 2017. A general overview of medicinal plants: A review. The Journal of Phytopharmacology 6: 349-51.

Akinboye, E.S. & Bakare, O. 2011. Biological activities of emetine. The Open Natural Products Journal 4: 8-15.

Al Aboody, M.S. & Mickymaray, S. 2020. Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. Antibiotics 9: 45-87.

Aly, A.A., Ali, G.M., & Eliwa, E.R. 2019. Phytochemical screening, anthocyanins and antimicrobial activities in some berries fruits. Journal of Food Measurement and Characterization 13: 911-920.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

Asgari, D., Babaei, A., Naghavi, M.R. & Kiani, M. 2020. Biodiversity status of *Tulipa* (Liliaceae) in Iran inferred from molecular characterization. Horticulture, Environment, and Biotechnology 61: 559-567.

Ashraf, A., Al-Shammari, E., Hussain, T., Tajuddin, S. & Panda, B.P. 2017. In-vitro antimicrobial activity and identification of bioactive components using GC–MS of commercially available essential oils in Saudi Arabia. The Journal of Food Science and Technology 54: 3948-3958.

Auwal, M.S., Saka, S., Mairiga, I.A., Sanda, K.A., Shuaibu, A. & Ibrahim, A. 2014. Preliminary phytochemical and elemental analysis of aqueous and fractionated pod extracts of *Acacia nilotica* (Thorn mimosa). Veterinary Research Forum 5: 95-100.

Balouiri, M., Sadiki, M. & Ibnsouda, S.K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis 6: 71-79.

Bele, A.A., Jadhav, V.M. & Kadam, V.J. 2010. Potential of tannins: A review. Asian Journal of Plant Sciences 9: 209-214.

Chavez-Santiago, J.O., Rodríguez-castillejos, G.C., Montenegro, G., Bridi, R., Valdés-Gómez, H., Alvarado-Reyna, S., Castillo-Ruiz, O. & Santiago-Adame, R. 2021. Phenolic content, antioxidant and antifungal activity of jackfruit extracts (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). The Journal of Food Science and Technology. https://doi.org/10.1590/fst.02221.

CLSI. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th Edition, CLSI documents M02, M07, and M11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.

Edeoga, H.O., Okwu, D.E. & Mbaebie, B.O. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African Journal of Biotechnology 4: 685-688.

Ezeonu, C.S. & Ejikeme, C.M. 2016. Qualitative and quantitative determination of phytochemical contents of indigenous Nigerian softwood. New Journal of Science 2016: 1-9.

Frey, F.M. & Meyers, R. 2010. Antibacterial activity of traditional medicinal plants used by Haudenosaunee peoples of New York State. BMC Complementary Medicine and Therapies 10: 64-74.

Gallucci, M.N., Zygadlo, J.A., Carezzano, M.E., Oliva, M.M., Demo, M.S., Pizzolitto, R.P., Zunino, M.P., & Dambolena, J.S. 2013. In vitro activity of natural phenolic compounds against fluconazole-resistant *Candida* species: a quantitative structure–activity relationship analysis. Journal of Applied Microbiology 116: 795-804.

Ghahreman, A., Attar, F., & Ghahremaninejad, F. 2007. A new species of *Tulipa* (Liliaceae) from western Iran. Novon 17: 437-439.

Ginovyan, M., Petrosyan, M. & Trchounian, A. 2017. Antimicrobial activity of some plant materials used in Armenian traditional medicine. BMC Complementary Alternative Medicine 17: 50-59.

Harborne, J.B. 2007. Phytochemichal methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Champ and Hall, London, Springer Ltd. 1-34.

Ibrahim, M.F., Farhad, M., Saeed Hussain, F.H., Zanoni, G. & Vidari, G. 2016. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Tulipa systola* stapf collected in Kurdistan region-Iraq. Zanco Journal of Pure and Applied Sciences 28: 44-49.

Kebede, T., Gadisa, E. & Tufa, A. 2021. Antimicrobial activities evaluation and phytochemical screening of some selected medicinal plants: A possible alternative in the treatment of multidrug-resistant microbes. PLOS ONE 16: e0249253.

Kiani, M., Sefidkon, F., Babaei, A. & Naghavi, M.R. 2015. Phytochemical profiling of medicinal isosteroidal alkaloids of Iranian *Fritillaria* spp. (Liliaceae). Industrial Crops and Products 70: 451-458.

Krzyminska, A., Gasecka, M. & Magdziak, Z. 2020. Content of phenolic compounds and organic acids in the flowers of selected *Tulipa gesneriana* Cultivars. Molecules 25: 5627-5642.

Lass-florl, C., Cuenca-estrella, M., Denning, D.W. & Rodriguez-tudela, J.I. 2006. Antifungal susceptibility testing in *Aspergillus* spp. according to EUCAST methodology. Medical Mycology Journal 44: S319-S325.

Motaleb, MA., Mohammed Kamal, H., Istiak, S., Khairul, A.M., Niaz Ahmed. & K., Remeen, F. 2011. Selected medicinal plants of Chittagong hill tracts. Dhaka: IUCN, p: 1.

Noguti, J., Rajinia, M., Zancope, B.R., Marquezin, M., Seleem, D., Pardi, V. & Murata, R.M. 2016. Antifungal activity of alkaloids against *Candida albicans*. The Journal of the California Dental Association 44: 493-498.

Pandey, A. & Tripathi, S. 2014. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2: 115-119.

Parvin, S., Abdul Kader, M., Uzzaman Chouduri, A., Abu Shuaib Rafshanjani, M., Ekramul Haque, M. & Md Abdul Kader, C. 2014. Antibacterial, antifungal, and insecticidal activities of the n-hexane and ethyl-acetate fractions of methanolic extract of the leaves of *Calotropis gigantea* Linn. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2: 47-51.

Pirnia, M., Edalatian Dovom, M.R., Tabatabaee Yazdi, F. & Shahidi, F. 2014. The antibacterial effects of the aqueous and ethanolic extracts of cordiamyxa fruit on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. Qom University Medical Sciences Journal 9: 39-48.

Radulovic, N.S., Blagojevic, P.D., Stojanovic-Radic Z.Z. & Stojanovic, N.M. 2013. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. Current Medicinal Chemistry Journal 20: 932-952.

Rahman, M.S. & Anwar, M.N. 2007. Antimicrobial activity of crude extract obtained from the root of *Plumbago zeylanica*. Bangladesh Journal of Microbiology 24: 73-5.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]

Rao, A., Zhang, Y., Muend, S. & Rao, R. 2010. Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 54: 5062-5069.

Santos, D.A., Barros, M.E.S. & Hamdan, J.S. 2006. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. Journal of Clinical Microbiology 44: 98-101.

Sempere-Ferre, F., Asamar, J., Castell, V., Roselló, J. & Pilar Santamarina, M. 2021. Evaluating the antifungal potential of botanical compounds to control *Botryotinia fuckeliana* and *Rhizoctonia solani*. Molecule 26: 2472-2485.

Sharafati-chaleshtori, R., Sharafati-Chaleshtori, F., Sharafati-Chaleshtori, A. & Ashrafi, K. 2010. Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of *Scrophularia striata*. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences11: 32-37.

Simonetti, G., Brasili, E. & Pasqua, G. 2020. Antifungal activity of phenolic and polyphenolic compounds from different matrices of *Vitis vinifera* L. against human pathogens. Molecule 25: 3748.

Smith, W.W. 1940. The genus *Tulipa*. Nature 146: 379-380.

Stankovi, N., Mihajilov-Krstev, T., Zlatkovi, B., Stankov-Jovanovi, V., Miti, V., Jovi, J., ˇComi, L., Koci, B. & Bernstein, N. 2016. Antibacterial and antioxidant activity from of traditional medicinal plants the Balkan Peninsula. Journal of Life Sciences 78: 21-28.

Teodoro, G.R., Ellepola, K., Seneviratne, C.J. & Koga-Ito, C.Y. 2015. Potential use of phenolic acids as anti-candida agents: A review. Frontiers in Microbiology 6: 1420-1431.

Tomova, I., Stoilova-Disheva, M., Lazarkevich, I. & Vasileva-Tonkova, E. 2015. Antimicrobial activity and resistance to heavy metals and antibiotics of heterotrophic bacteria isolated from sediment and soil samples collected from two Antarctic islands. Frontiers in Life Science 8: 348-357.

Valli, M., Pivatto, M., Danuello, A., Castro-Gamboa, I., Silva, D.H.S. & Cavalheiro, A.J. 2012. Tropical biodiversity: Has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry? Tropical Biodiversity 35: 2278-2287.

Wendelbo, P. 1976. Tulips and Irises of Iran and their relatives. Botanical Institute of Iran, pp. 83.

Zhu, C., Lei, M., Andargie, M., Zeng, J. & Li, J. 2019. Antifungal activity and mechanism of action of tannic acid against *Penicillium digitatum*. Physiological and Molecular Plant Pathology 107: 46-50.

*****

How to cite this article:

Tafakori, V. 2021. Evaluation of phytochemical characterizations and antifungal potency of aqueous and methanolic extracts of *Tulipa biflora* Pall. Nova Biologica Reperta 8: 297-306. (In Persian).

تفکری، و. ۱۴۰۰. ارزیابی خواص فیتوشیمیایی و پتانسیل ضدقارچی عصاره‌های آبی و متانولی لاله هفت رنگ. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۳۰۶-۲۹۷.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-07]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.5.0]

[DOI: 10.52547/nbr.8.4.297]