آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۷، شماره ۱، شهریور ۱۳۸۸

بررسی مقدماتی تأثیرات ضد قارچی عصاره بریوفیت‌ها

Introductional study of antifungal activities of bryophyte extracts

سعید شیرزادیان*، همایون افشاری‌آزاد و جواد خلقانی
مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران
(تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۵، تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۷)

چکیده

تأثیر ضد قارچی عصاره‌های مختلف ۲۳ آرایه بریوفیت شامل ۲۱ گونه خزه و دو گونه هپاتیک (جگرواش) برای نخستین بار در کشور صورت گرفت. بدین منظور، تأثیر عصاره‌های هر یک از گونه‌های مورد نظر روی هفت گونه قارچ بیماریزای گیاهی به اسامی: *Alternaria alternata*, *F. oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, و *Verticillium dahliae* بررسی گردید. جهت انجام این کار، ابتدا نمونه‌های تازه از بریوفیت‌ها جمع‌آوری و پس از آماده‌سازی توسط حلال‌های آبی (خام و جوشانده)، اتانولی، متانولی، استونی و اتر نفتی عصاره‌گیری گردیدند. عصاره‌ها به نسبت حجمی ۱:۱۰ با محیط کشت زاپک مخلوط و رشد قارچ‌های مورد نظر روی آن‌ها با شاهد (محیط کشت بدون عصاره) مقایسه گردید. از بین بریوفیت‌های تحت بررسی، عصاره اتانولی شش گونه خزه به اسامی: *Philonotis marchica*, *Grimmia pulvinata*, *Plagiomnium rugicum*, *Haplocladium* sp., *Bryum pallens*, *Drepanocladus aduncus* و دو گونه جگرواش به اسامی: *Pellia epiphylla* و *Dumortiera hirsuta*. دارای بیشترین طیف تأثیر قارچ‌کشی بود. از سوی دیگر، دو گونه جگرواش به اسامی: *Dumortiera hirsuta* و *Pellia epiphylla* به ترتیب قادر به کنترل رشد *Pythium* sp. و *R. solani* شدند. تجزیه داده‌ها با

* Corresponding author: shirzadian2003@yahoo.co.uk

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده از نرم‌افزار آماری MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن انجام شد. نتایج واریانس برای تأثیر عصاره برخی گونه‌های بریوفیت در رشد میسلیوم اغلب قارچ‌های مورد نظر نشان داد که از این نظر بین گونه‌های بریوفیت تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد. همچنین مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه قارچ‌های مورد بررسی در ارتباط با گونه‌های بریوفیت مورد آزمایش از نظر تأثیر بر رشد میسلیوم قارچ‌ها نیز تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: خزه، هپاتیک، جگرواش، ضد میکروبی، بیماریزایی، کنترل

Abstract

In order to evaluate the antifungal activities of bryophytes, 23 taxa (including 21 mosses and two leafy liverworts) were collected, washed, dry-powdered and then extracted in different solvents including water, methanol, ethanol, acetone and petroleum ether. These extracts were mixed with Czapek-Dox (CzA) medium at the ratio of 1:10, and seven different pathogenic fungal species, namely, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* and *Pythium* sp. were then grown on these mixtures. Controls were kept free of the plant extracts. Among the collected and studied bryophytes, the broadest spectrum of antifungal activity were shown by the ethanolic extracts of six moss species, namely, *Philonotis marchica*, *Grimmia pulvinata*, *Plagiomnium rugicum*, *Haplocladium* sp., *Bryum pallens* and *Drepanocladus aduncus* followed by two liverworts called *Pellia epiphylla* and *Dumortiera hirsuta*. It was also concluded that, ethanol was the most efficient among other experimental solvents. The statistical analysis using MSTATC showed significant variances between the effects of above-mentioned bryophyte extracts on the mycelial growth of the pathogenic fungi under investigation.

Key words: moss, hepatic, liverwort, antimicrobial, pathogenic, control

مقدمه

طی تحقیقات متعددی که تا کنون در کشورهای مختلف جهان در مورد خزه‌گیان یا بریوفیت‌ها (خزه‌ها و هپاتیک‌ها یا جگرواش‌ها) صورت گرفته، علاوه بر دستیابی به موارد متعدد کاربردی آن‌ها (Ando and Matsuo, 1984)، دامنه وسیعی از مواد آلی از این گیاهان

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج و شناسایی گردیده که دارای خواص ضد قارچی و ضد باکتریایی بوده و هم اکنون در برخی کشورها در گیاهپزشکی و داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

از سال‌ها پیش، دانشمندان متوجه این نکته شده بودند که بریوفیت‌ها برخلاف گیاهان گلدار مورد حمله تعداد اندکی از میکروارگانیزم‌ها قرار می‌گیرند و در نتیجه برای نگهداری نمونه‌های هرباریومی آن‌ها تیمار خاصی لازم نیست (Banerjee & Sen, 1979). از طرف دیگر، با مرور برخی منابع، چگونگی تأثیر عصاره این گیاهان در کنترل میکروارگانیزم‌ها به روشنی آشکار می‌گردد (McCleary & Walkington, 1966; Gunnison & Alexander, 1975; Glime & Saxena, 1991). در بررسی‌هایی که توسط Madsen & Pates (1952) انجام شد، هشت گونه بریوفیت به اسامی: *Dumortiera hirsuta*, *S. strictum*, *Sphagnum portoricense* و *Orthotrichum rupestre* علیه قارچ *Candida albicans* دارای اثر بازدارندگی رشد بودند. همچنین Mc Cleary *et al.* (1960)، جلوگیری از رشد قارچ مذکور را توسط خزه‌ها گزارش نمودند. طی مطالعاتی که Wolters (1964) روی ۱۸ گونه از بریوفیت‌ها انجام داد، نتیجه گرفت که گونه‌های *Plagiothecium delicatulum*, *Pogonatum aloides* و *Diplophyllum albicans* در این ارتباط بیشترین نقش را ایفاء نمودند. در پژوهش‌های بیشتری که متعاقباً انجام گرفت (Mc Clure & Miller, 1967; Huneck, 1969; Tutscheck & Rodolph, 1971; Herout, 1975; Huneck & Schreiber, 1975; Smith, 1978)، مواد مختلفی از جمله چربی‌های اشباع نشده، اسیدهای چرب استری، لیگنان‌ها، فلاونوییدها، تری‌ترپنوییدها و مواد فنلی از بریوفیت‌ها استخراج و مورد شناسایی قرار گرفت. از آن جمله، Pryce (1972) نشان داد که اسیدهای Lunularic و Lunuralin موجود در گونه‌ای از این گیاهان، از جوانه‌زنی هاگ قارچ‌هایی نظیر: *Alternaria brassicola*, *Botrytis cinerea*, *Septoria nodurum* و *Uromyces fabae* جلوگیری می‌نماید. در همین راستا Banerjee & Sen (1979)، طی آزمایش‌های گسترده‌ای که روی ۵۲ گونه از بریوفیت‌ها در مقابل ۱۲ میکروارگانیزم از جمله: *Aspergillus niger*, *Curvularia lunata* و *Helminthosporium oryzae* انجام دادند، وجود مواد ضد قارچی را در این گیاهان به اثبات رساندند. بنابر اظهار آن‌ها، خواص آنتی بیوتیکی بریوفیت‌ها از گونه‌ای به گونه دیگر تفاوت محسوس دارد و به سن، زمان جمع‌آوری، جایگاه بوم‌شناختی (نظیر ارتفاع محل رویش و

Archive of SID

www.SID.ir

غیره) و حلال ارتباط مستقیم دارد. به علاوه، به اعتقاد آن‌ها، pH عصاره آبی هرگز نمی‌تواند کمتر از چهار و بالاتر از هفت برود. نظر Mc Cleary & Walkington (1966) در مورد عصاره‌های *Sphagnum cuspidatum*، *S. palustre* و *Polythrichum commune* نیز این مطلب را تأیید می‌نماید. Banerjee & Sen (1979) نیز درصد وسیعی از اثرات بازدارندگی را در خزه‌ای به نام: *Brachythecium procumbens* و دو گونه جگرواش به اسامی: *Asterella sanguinea* و *Marchantia palleacea* به اثبات رساندند. Borel *et al*. (1993) پس از عصاره‌گیری از هشت گونه خزه، ماده بازدارنده رشدی به نام Dicranin را از *Dicranum scoparium* استخراج و آن را با موفقیت علیه میکروارگانیزم‌های پارازیت به کار بردند. Lorimer *et al*. (1993) موفق به استخراج ماده ضد قارچی دیگری به نام Bibenzyl از جگرواش‌ها شدند. همچنین این محقق به کمک یکی از همکارانش (Lorimer & Perry, 1994) توانست مواد ضد قارچی دیگری را به نام Hydroxyacetophenones در این گیاهان کشف نماید. علاوه بر این، اسید چرب جدیدی به نام Cyclopentenyl از خزه‌هایی به اسامی: *Dicranum japonicum* و *D. scoparium* استخراج گردید که رشد قارچ *Pyricularia oryzae* را که موجب بیماری بلاست برنج می‌گردید، کاملاً مهار نماید. به گزارش Makuria *et al*. (1998)، خزه‌ها برخلاف گیاهان گلدار، فاقد مکانیزم‌های دفاعی هستند ولی در عوض به دلیل داشتن مواد پلی‌فنلی برای مقابله با میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا، از مکانیزم ویژه‌ای برخوردارند.

با توجه به مطالب فوق‌الذکر، علیرغم ادامه تحقیقات متعددی که اخیراً در مورد مواد ضد قارچی و باکتریایی بریوفیت‌ها در سراسر جهان انجام گرفته (Tadesse 2002, Frahm, 2004)، هنوز در ایران در این زمینه پژوهشی صورت نگرفته و تنها می‌توان به یک مورد تحقیقات مقدماتی که در سال ۱۳۷۸ در قالب رساله دکتری توسط Mirzaee (1999) به انجام رسیده اشاره نمود. وی تأثیرات ضد میکروبی برخی خزه‌ها روی گونه‌هایی از قارچ‌ها و باکتری‌ها را بررسی نمود و تأثیر خزه‌هایی را که قائم (acrocarps) و خزنده یا خوابیده (pleurocarps) بودند و همینطور بخش‌های گامتوفیتی و اسپوروفیتی هر یک را به طور جداگانه مورد پژوهش قرار داد و از هر یک نتایج متفاوتی به دست آورد. طبق این نتایج، ساختار مرفولوژیکی خزه‌ها در مقدار مؤثر بودن یا نبودنشان دخالت مستقیم دارد و این گیاهان قدرت عمل را در مرحله اسپوروفیتی

Archive of SID

www.SID.ir

به دلیل حضور پلیمرهای متصل به دیواره سلولی به طور بیشتری نشان می‌دهند.

در پژوهش حاضر، فعالیت ضد قارچی تعداد ۲۳ گونه مختلف از بریوفیت‌ها که از این تعداد ۲۱ گونه مربوط به خزه‌ها و دو گونه هم به هپاتیک (جگرواش) های برگدار تعلق دارند برای نخستین بار در کشور انجام گرفت. جهت این کار، ابتدا عصاره‌گیری از نمونه‌ها به عمل آمد و سپس تأثیر عصاره هر یک از گونه‌ها روی چند قارچ بیماریزای موجود مورد آزمایش و مطالعه قرار گرفت. با جمع‌آوری گونه‌های مورد نظر از این گیاهان که طی مراحل مختلف انجام و سپس مورد شناسایی قرار گرفتند، نگارندگان سعی نمودند که با هدف برداشتن گام‌هایی در راستای اهداف کنترل بیولوژیک، ضمن اثبات این امر بتوانند گونه‌هایی از بریوفیت‌ها را که از آن‌ها برای کنترل قارچ‌ها می‌توان استفاده نمود معرفی نمایند. لذا، بدین منظور می‌توان از این گیاهان که قادرند به طور طبیعی تأثیر بازدارندگی و مهار رشد قارچ‌های بیماریزا را ایفاء نمایند، با روش‌های ساده و کم هزینه استفاده نمود. نتایج به دست آمده بدون تردید می‌تواند به عنوان یکی از راهکارهای بهینه در تضمین طرح کاهش سموم در امر کشاورزی پیشنهاد و مورد استفاده قرار گیرد.

روش بررسی

مراحل مختلف آزمایش‌ها به شرح زیر انجام گردید:

۱- جمع‌آوری نمونه‌های بریوفیت: در مرحله اولیه اجرا، ابتدا نمونه‌های تازه از بریوفیت‌ها (خزه‌ها و هپاتیک‌ها یا جگرواش‌ها) از مناطق مختلف در قالب یک طرح تحقیقاتی جمع‌آوری شد. بدین منظور، نمونه‌ها بلافاصله پس از جمع‌آوری درون کیسه‌های نایلونی قرار داده شدند و سپس مشخصات صحرایی هر یک شامل محل جمع‌آوری، ارتفاع، بستر رویش، تاریخ جمع‌آوری و ... به کیسه مربوط الصاق گردید. نمونه‌ها در کوتاه‌ترین زمان ممکن به فریزر انتقال داده شد تا مواد مؤثره آن‌ها حدالامکان حفظ گردد. قبل از شروع عملیات آزمایشگاهی جهت انجام عصاره‌گیری‌ها (ظرف مدت حداکثر ۴۸ ساعت پس از زمان جمع‌آوری)، نمونه‌ها با استفاده از کلیدهای شناسایی موجود در فلورهای معتبر بریوفیت‌ها (Frey *et al*., 1995; Smith, 2004) تعیین نام و سپس با الصاق کد مخصوص در هرباریوم وزارت

Archive of SID

www.SID.ir

جهاد کشاورزی ("IRAN") قرار داده شدند (به شرح ارایه شده در جداول پیوست)، اما بخش اعظم نمونه‌ها جهت انجام عصاره‌گیری‌ها به آزمایشگاه بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان (موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور) منتقل شد. نمونه‌ها روی روزنامه در سایه در دمای آزمایشگاه خشک گردیدند و بعد توسط آسیاب برقی پودر شده و از غربالی با منافذ ۰/۵ میلی‌متر گذرانده، سپس جهت انجام مراحل مختلف عصاره‌گیری به درون شیشه‌های تیره رنگ منتقل گردیدند.

۲- معرفی قارچ‌ها شامل تهیه و شناسایی: تعدادی از قارچ‌های شناسایی شده موجود در کلکسیون بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان شامل چند جدایه قارچ خاکزاد و هوازاد انتخاب و برای بررسی تأثیر عصاره‌های بریوفیت در نظر گرفته شدند.

۳- عصاره‌گیری: عصاره‌گیری از پودر نمونه‌های بریوفیت طبق روش Banerjee and Sen (1979) با تغییرات جزیی انجام گرفت. از آنجایی که از نتایج به دست آمده پس از آزمودن حلال‌های آبی (خام و جوشانده)، اتانولی، متانولی، استونی و اتر نفتی در سال‌های نخست این بررسی بهترین نتیجه از عصاره اتانولی به دست آمد، لذا در اغلب آزمایش‌ها، فقط از عصاره اتانولی استفاده گردید. بدین منظور، مقدار یک گرم پودر خشک از هر نمونه بریوفیت با ۱۰ میلی‌لیتر حلال مخلوط نموده و به مدت ۱۲ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای اتاق تکان داده شد. سپس بقایای گیاه از طریق سانتریفیوژ کردن به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰rpm از عصاره جدا گردید. برای تبخیر حلال از عصاره‌ها، از دستگاه تقطیر دوار در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. پس از خارج نمودن حلال، حجم عصاره‌ها با آب مقطر استریل به حجم قبلی رسانده شده و برای انجام آزمایش‌ها به کار گرفته شدند.

۴- بررسی تأثیر عصاره‌های بریوفیت روی قارچ‌ها: عصاره‌ها به نسبت حجمی ۱:۱۰ با محیط کشت زاپک- آگار (CzA) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط گردید و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از آن‌ها به تشتک‌های پتری ۱۰ سانتی‌متری منتقل گردید. بعد از سرد شدن مخلوط عصاره و محیط کشت، اقدام به انتقال یک قطعه کشت تازه از هر یک از قارچ‌های مورد آزمایش (*Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, و *Verticillium dahliae*) به قطر هفت میلی‌متر به مرکز ظرف

Archive of SID

www.SID.ir

حاوی محیط کشت گردید. عمل انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. ارزیابی تیمارها به صورت اندازه‌گیری قطر پرگنه قارچ کشت شده همزمان با موقعی بود که در تیمار شاهد (فاقد عصاره) قطر پرگنه قارچ به حداکثر (۹۰ میلی‌متر) رسیده بود.

۵- تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن انجام شد که مشروح آن در قسمت نتایج آورده شده است.

نتیجه و بحث

تأثیر عصاره‌های گونه‌های مختلف بریوفیت روی قارچ‌های مورد نظر طی آزمایش‌های متفاوت انجام و با محاسبات آماری به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت:

مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ بیماریزای گیاهی به اسامی: *Alternaria alternata* و *Rhizoctonia solani*، *Fusarium solani*، *Macrophomina phaseolina* در عصاره اتانولی هفت گونه بریوفیت به اسامی: *Bryum capillare*، *B. stenotrichum*، *B. caespiticium*، *Pellia epiphylla*، *Drepanocladus uncinatus*، *Philonotis marchica* و *Leskea polycarpa* نشان داد که بین گونه‌های شماره ۴ و ۶ بریوفیت با پنج گونه دیگر از نظر تأثیر بر رشد میسلیوم قارچ‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به طوری که در گونه شماره ۴ بریوفیت کمترین رشد میسلیوم (۸۱/۶۶۷ میلی‌متر) و در گونه شماره ۱ بیشترین رشد میسلیوم (۸۹/۱۶۷ میلی‌متر) ملاحظه شد. بین سایر گونه‌ها تفاوت معنی‌داری از این نظر ملاحظه نشد (جدول ۱).

همچنین مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه قارچ‌های مذکور پس از تیمار با عصاره اتانولی هفت گونه بریوفیت فوق نشان داد که بین گونه ۱ با سه گونه دیگر تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به طوری که در گونه ۱ کمترین رشد میسلیوم (۸۱/۴۱۳ میلی‌متر) و در گونه ۲ بیشترین رشد میسلیوم (۸۷/۹۲۹ میلی‌متر) ملاحظه شد. بین گونه‌های شماره ۲، ۳ و ۴ تفاوت معنی‌داری از این نظر ملاحظه نشد (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ* در عصاره اتانولی هفت گونه بریوفیت

Table 1- Mean comparison of four fungal colony* diameters in seven bryophyte species ethanolic extracts

کد بریوفیت Bryophyte code	گونه بریوفیت Bryophyte species	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
1	*Bryum capillare*	89.167 [a]
2	*B. stenotrichum*	87.292 [ab]
3	*B. caespiticium*	85.500 [b]
4	*Pellia epiphylla*	81.667 [c]
25	*Drepanocladus uncinatus*	86.222 [ab]
6	*Philonotis marchica*	81.917 [c]
7	*Leskea polycarpa*	88.194 [ab]

* *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* and *Alternaria alternata.*

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means in each column followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ پس از تیمار با عصاره اتانولی هفت گونه بریوفیت مذکور در جدول ۱

Table 2- Mean comparison of four fungal colony diameters treated with ethanolic extracts of seven bryophyte species mentioned in Tab. 1

کد قارچ Fungal code	گونه قارچ Fungal species	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
1	*Rhizoctonia solani*	81.413 [b]
2	*Fusarium solani*	87.929 [a]
3	*Macrophomina phaseolina*	85.778 [a]
4	*Alternaria alternata*	87.714 [a]

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

از سوی دیگر، مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ فوق‌الذکر در شش نوع عصاره آبی خام، جوشانده آبی، اتانولی، متانولی، استونی و اتر نفتی نشان داد که عصاره اتانولی بیشترین تأثیر را بر رشد میسلیوم قارچ‌ها داشت، به طوری که در این عصاره کمترین رشد میسلیوم (۷۹/۶۶۷ میلی‌متر) و در عصاره آبی خام بیشترین رشد میسلیوم (۸۹/۶۷۹ میلی‌متر) ملاحظه شد. بین عصاره‌های جوشانده آبی، متانولی و استونی و همچنین بین عصاره‌های آبی

Archive of SID

www.SID.ir

خام و اتر نفتی تفاوت معنی‌داری از این نظر ملاحظه نشد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ* در شش نوع عصاره مختلف

Table 3- Mean comparison of four fungal colony* diameters in six different extract types

عصاره استخراج شده از حلال‌های مختلف Extracts of different solvents	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
آبی خام (Raw water)	89.679 [a]
جوشانده آبی (Boiled water)	85.440 [bc]
اتانولی (Ethanolic)	79.667 [d]
متانولی (Methanolic)	84.381 [c]
استونی (Acetonic)	86.774 [bc]
اتر نفتی (Petrolium etheric)	88.310 [ab]

* *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* and *Alternaria alternata*

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

نتایج تجزیه واریانس برای تأثیر عصاره‌های اتانولی هفت گونه بریوفیت مذکور در رشد میسلیوم چهار گونه قارچ مورد نظر نشان داد که از این نظر بین گونه‌های بریوفیت تفاوت بسیار معنی‌دار بود. همچنین بین گونه‌های قارچ نیز از نظر میزان رشد میسلیوم تفاوت بسیار معنی‌داری وجود داشت، اما اثر متقابل آن‌ها (گونه بریوفیت × گونه قارچ) معنی‌دار نبود، لیکن بین شش نوع از عصاره‌ها تفاوت بسیار معنی‌داری موجود بود. در مورد اثر متقابل گونه بریوفیت × نوع عصاره تفاوت معنی‌داری ملاحظه نشد، این در حالی است که بین گونه قارچ × نوع عصاره اثر متقابل معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴).

مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه پنج گونه قارچ *Rhizoctonia solani*، *Fusarium solani*، *Macrophomina phaseolina*، *Alternaria alternata* و *F. oxysporum* در عصاره اتانولی نه گونه بریوفیت به اسامی: *Grimmia hartmanii*، *G. pulvinata*، *Syntrichia princeps*، *Orthotrichum rupestre*، *Bryum neodamense*، *Drepanocladus aduncus*، *Bryum weigelii*، *Amblystegium tenax* و *Philonotis fontana* نشان داد که بین گونه‌های بریوفیت از نظر تأثیر بر رشد میسلیوم قارچ‌های مذکور تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به طوری که در گونه شماره ۱۶ بریوفیت،

Archive of SID

www.SID.ir

کمترین رشد میسلیوم (۴۷/۴۰۰ میلی‌متر) و در گونه ۳۱ بیشترین رشد میسلیوم (۸۶/۸۰۰ میلی‌متر) ملاحظه شد (جدول ۵).

جدول ۴- تجزیه واریانس برای تأثیر عصاره‌های اتانولی هفت گونه بریوفیت در رشد میسلیوم چهار گونه قارچ بیماریزای گیاهی (اسامی گونه‌ها در جدول ۱ آورده شده است)

Table 4- Analysis of variance for the effect of seven bryophyte species extracts on mycelial growth of four pathogenic fungi (name of species are mentioned in Tab. 1)

Source of variation	Degree of freedom	Mean of squares
Bryophyte species	6	20.005 **
Fungal species	3	1151.245 **
Bryophyte species×fungal species	18	124.264 $^{n.s}$
Extract type	5	1041.594 **
Bryophyte species×extract type	30	54.507 $^{n.s}$
Fungal species×extract type	15	157.666 *
Bryophyte species×fungal species×extract type	90	21.720 $^{n.s}$
Error	336	80.871

Coefficient of variation (C.V.) = 10.49%
** Significant at 1% level
* Significant at 5% level
n.s = not significant

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه پنج گونه قارچ* در عصاره اتانولی نه گونه بریوفیت

Table 5- Mean comparison of five fungal colony* diameters in nine bryophyte species ethanolic extracts

کد بریوفیت Bryophyte code	گونه بریوفیت Bryophyte species	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
15	*Grimmia hartmanii*	55.600 ^{g}
16	*G. pulvinata*	47.400 ^{i}
17	*Syntrichia princeps*	74.200 ^{d}
18	*Orthotrichum rupestre*	53.800 ^{h}
27	*Bryum neodamense*	71.000 ^{e}
28	*Drepanocladus aduncus*	57.400 ^{f}
29	*Bryum weigelii*	85.000 ^{b}
30	*Amblystegium tenax*	76.600 ^{c}
31	*Philonotis fontana*	86.800 ^{a}

* *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum, Macrophomina phaseolina* and *Alternaria alternata.*

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه پنج گونه قارچ مذکور پس از تیمار با عصاره اتانولی نه گونه بریوفیت فوق نشان داد که بین این قارچ‌ها از نظر رشد میسلیوم تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به طوری که در گونه شماره ۲۵ بریوفیت کمترین رشد میسلیوم (۵۹/۸۸۹ میلی‌متر) و گونه شماره ۴ بریوفیت بیشترین رشد میسلیوم (۷۷/۴۴۴ میلی‌متر) را داشت. البته بین گونه‌های شماره ۵ و ۳ تفاوت معنی‌داری از این نظر ملاحظه نشد (جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه پنج گونه قارچ پس از تیمار با عصاره اتانولی نه گونه بریوفیت مذکور در جدول ۵

Table 6- Mean comparison of five fungal colony diameters treated with ethanolic extracts of nine bryophyte species mentioned in Tab. 5

کد قارچ Fungal code	گونه قارچ Fungal species	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
1	*Fusarium solani*	69.444 [c]
2	*F. oxysporum*	70.889 [b]
3	*Rhizoctonia solani*	60.000 [d]
4	*Macrophomina phaseolina*	77.444 [a]
5	*Alternaria alternata*	59.889 [d]

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

جدول ۷- تجزیه واریانس برای تأثیر عصاره‌های نه گونه بریوفیت در رشد میسلیوم پنج گونه قارچ بیماریزای گیاهی (اسامی گونه‌ها در جداول ۵ و ۶ آورده شده است)

Table 7- Analysis of variance for the effect of nine bryophyte species extracts on mycelial growth of five pathogenic fungi (name of species are mentioned in Tabs 5 and 6)

Source of variation	Degree of freedom	Mean of squares
Bryophyte species	8	3101.250 **
Fungal species	4	1541.233 **
Bryophyte species×fungal species	32	1368.958 **
Error	90	1.089

Coefficient of variation (C.V.) = 1.55%
** Significant at 1% level

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج تجزیه واریانس برای تأثیر عصاره‌های اتانولی نه گونه بریوفیت فوق‌الاشاره در رشد میسلیوم پنج گونه قارچ بیماریزای گیاهی مذکور نشان داد که از این نظر بین گونه‌های بریوفیت و بین گونه‌های قارچ تفاوت بسیار معنی‌داری وجود داشت. همچنین اثر متقابل آن‌ها (گونه بریوفیت × گونه قارچ) نیز بسیار معنی‌دار بود (جدول ۷).

مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه پنج گونه قارچ مشروح در جدول ۸ برای اثر متقابل هر یک از عصاره‌های اتانولی بریوفیت‌ها × گونه‌های قارچ نشان داد که اثر گونه‌های بریوفیت بر گونه قارچ از نظر رشد میسلیوم تفاوت معنی‌داری داشت. گونه بریوفیت ۲۸ در گونه قارچ ۳ کمترین رشد میسلیوم (۱۰/۰۰۰ میلی‌متر) و در گونه بریوفیت ۱۶ در همان گونه قارچ (۹۱/۰۰۰ میلی‌متر) بیشترین رشد میسلیوم را داشت. همچنین پس از آن، گونه بریوفیت ۱۵ در گونه قارچ ۳ کمترین رشد میسلیوم (۱۵/۰۰۰ میلی‌متر) را داشت، اما بین این دو با یکدیگر تفاوت معنی‌داری موجود بود (جدول ۸).

همچنین مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار قارچ مشروح در جدول ۹ برای اثر متقابل هر یک از عصاره‌های بریوفیت‌ها × حجم عصاره نشان داد که عکس‌العمل گونه‌های بریوفیت در مقدار عصاره از نظر رشد میسلیوم تفاوت معنی‌داری داشت. گونه بریوفیت ۲۱ در مقدار عصاره ۲ میلی‌لیتر بیشترین رشد میسلیوم (۸۴/۵۰۰ میلی‌متر)، در حالیکه گونه بریوفیت ۲۲ در مقدار عصاره ۴ میلی‌لیتر کمترین رشد میسلیوم (۴۳/۲۵۰ میلی‌متر) را داشت (جدول ۹).

نتایج تجزیه واریانس برای تأثیر دو مقدار مختلف عصاره اتانولی هشت گونه بریوفیت بر رشد میسلیوم چهار گونه قارچ بیماریزای گیاهی مشروح در جدول ۹ نشان داد که از این نظر بین گونه‌های بریوفیت، بین گونه‌های قارچ و مقادیر مختلف عصاره اتانولی از نظر میزان رشد میسلیوم تفاوت بسیار معنی‌دار بود. همچنین اثرات متقابل آن‌ها (گونه بریوفیت × گونه قارچ، گونه بریوفیت × مقدار عصاره و گونه قارچ × مقدار عصاره) نیز بسیار معنی‌دار بود (جدول ۱۰).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه پنج قارچ برای اثر متقابل هر یک از عصاره‌های اتانولی گونه‌های بریوفیت × گونه قارچ

Table 8- Mean comparison of five fungal colony diameters for each bryophyte species ethanolic extract × fungal species

کد بریوفیت Bryophyte code	گونه بریوفیت Bryophyte species	کد قارچ Fungal code	گونه قارچ Fungal species	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
15	*Grimmia hartmanii*	1	*Fusarium solani*	65.000 i
		2	*F. oxysporum*	63.000 j
		3	*Rhizoctonia solani*	15.000 r
		4	*Macrophomina phaseolina*	90.000 a
		5	*Alternaria alternata*	45.000 m
16	*G. pulvinata*	1	*Fusarium solani*	50.000 l
		2	*F. oxysporum*	60.000 k
		3	*Rhizoctonia solani*	91.000 a
		4	*Macrophomina phaseolina*	17.000 q
		5	*Alternaria alternata*	20.000 p
17	*Syntrichia princeps*	1	*Fusarium solani*	82.000 b
		2	*F. oxysporum*	75.000 e
		3	*Rhizoctonia solani*	90.000 a
		4	*Macrophomina phaseolina*	90.000 a
		5	*Alternaria alternata*	34.000 n
18	*Orthotrichum rupestre*	1	*Fusarium solani*	72.000 f
		2	*F. oxysporum*	63.000 j
		3	*Rhizoctonia solani*	25.000 o
		4	*Macrophomina phaseolina*	89.000 a
		5	*Alternaria alternata*	20.000 p
27	*Bryum neodamense*	1	*Fusarium solani*	68.000 h
		2	*F. oxysporum*	62.000 j
		3	*Rhizoctonia solani*	68.000 h
		4	*Macrophomina phaseolina*	79.000 cd
		5	*Alternaria alternata*	78.000 d
28	*Drepanocladus aduncus*	1	*Fusarium solani*	65.000 i
		2	*F. oxysporum*	75.000 e
		3	*Rhizoctonia solani*	10.000 s
		4	*Macrophomina phaseolina*	62.000 j
		5	*Alternaria alternata*	75.000 e
29	*Bryum weigelii*	1	*Fusarium solani*	75.000 e
		2	*F. oxysporum*	80.000 c
		3	*Rhizoctonia solani*	90.000 a
		4	*Macrophomina phaseolina*	90.000 a
		5	*Alternaria alternata*	90.000 a
30	*Amblystegium tenax*	1	*Fusarium solani*	73.000 f
		2	*F. oxysporum*	70.000 g
		3	*Rhizoctonia solani*	62.000 j
		4	*Macrophomina phaseolina*	90.000 a
		5	*Alternaria alternata*	88.000 a
31	*Philonotis fontana*	1	*Fusarium solani*	75.000 e
		2	*F. oxysporum*	90.000 a
		3	*Rhizoctonia solani*	90.000 a
		4	*Macrophomina phaseolina*	90.000 a
		5	*Alternaria alternata*	89.000 a

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۹- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ* برای اثر متقابل هر یک از عصاره‌های بریوفیت × حجم عصاره

Table 9- Mean comparison of four fungal colony* diameters for each bryophyte species extract × extract volume

کد بریوفیت Bryophyte code	گونه بریوفیت Bryophyte species	حجم عصاره (میلی‌لیتر) Extract volume (ml)	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
19	*Warnstorfia exannulata*	2	73.250 d
		4	59.500 g
20	*Didymodon spadiceus*	2	76.000 c
		4	66.750 f
21	*Gymnostomum aeruginosum*	2	84.500 a
		4	58.000 h
22	*Dumortiera hirsuta*	2	52.250 i
		4	43.250 j
23	*Cratoneuron commutatum*	2	70.750 e
		4	59.750 g
24	*Plagiomnium rugicum*	2	70.250 e
		4	59.500 g
25	*Drepanocladus uncinatus*	2	78.250 b
		4	72.500 d
26	*Cratoneuron filicinum*	2	75.750 c
		4	67.500 f

* *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *M. phaseolina* and *Pythium* sp.

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ مذکور برای اثر متقابل هر یک از عصاره‌های بریوفیت‌ها × گونه‌های قارچ نشان داد که عکس‌العمل گونه‌های قارچ در گونه بریوفیت از نظر رشد میسلیوم تفاوت معنی‌داری داشت. گونه قارچ ۳ در گونه بریوفیت ۲۲ کمترین رشد میسلیوم (۲۴/۵۰۰ میلی‌متر) و در گونه قارچ ۱ در گونه‌های بریوفیت ۲۵ و ۲۶ بیشترین رشد میسلیوم (۹۰/۰۰۰ میلی‌متر) را داشت (جدول ۱۱).

در پایان مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ مشروح در جدول ۱۱ برای اثر متقابل گونه‌های قارچ × حجم عصاره نشان داد که عکس‌العمل گونه‌های قارچ در مقدار عصاره از نظر رشد میسلیوم تفاوت معنی‌داری داشت. گونه قارچ ۳ در مقدار عصاره ۴

Archive of SID

www.SID.ir

میلی‌لیتر کمترین رشد میسلیوم (۵۰/۷۵۰ میلی‌متر) و در گونه قارچ ۱ در مقدار عصاره ۲ میلی‌لیتر بیشترین رشد میسلیوم (۸۷/۵۰۰ میلی‌متر) را داشت (جدول ۱۲).

جدول ۱۰- تجزیه واریانس برای تأثیر دو مقدار عصاره اتانولی هشت گونه بریوفیت بر رشد میسلیوم چهار گونه قارچ بیماریزای گیاهی (اسامی گونه‌ها در جدول ۹ آورده شده است)

Table 10- Analysis of variance for the effect of eight bryophyte species ethanolic extracts on mycelial growth of four pathogenic fungi (name of species are mentioned in Tab. 9)

Source of variation	Degree of freedom	Mean of squares
Bryophyte species	7	1737.261 **
Extract volume	1	6662.297 **
Bryophyte species × extract volume	7	244.440 **
Fungal species	3	5931.922 **
Bryophyte species × fungal species	21	509.065 **
Fungal species × extract volume	3	379.172 **
Bryophyte species × fungal species × extract volume	21	200.172 **
Error	128	1.875

Coefficient of variation (C.V.) = 2.05%
** Significant at 1% level

تأثیر ضد قارچی بریوفیت‌ها و این که این گیاهان تا چه حد قادرند از رشد قارچ‌ها جلوگیری به عمل آورند، تا کنون در بعضی کشورهای جهان انجام گرفته ولی بیشتر آن‌ها در مورد تأثیر این گیاهان روی قارچ‌های بیماریزای پزشکی بوده است (Madsen & Pates, 1952; Mc Cleary & Walkington, 1966; Gunnison & Alexander, 1975; Glime & Saxena, 1991). این در حالی است که تا کنون تحقیقات اندکی درباره نقش بریوفیت‌ها روی قارچ‌های بیماریزای گیاهی صورت گرفته است (Pryce, 1972, Banerjee & Sen, 1979). در بررسی‌های انجام شده توسط این محققان، قارچ‌های بیماریزای گیاهی نظیر: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Curvularia*, *Helminthosporium*, *Septoria*, *Pyricularia* و *Uromyces* جهت انجام این مطالعات در نظر گرفته شد که نتایج آن مورد توجه دانشمندان ذیربط قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱۱- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ برای اثر متقابل هر یک از عصاره‌های اتانولی بریوفیت × گونه قارچ

Table 11- Mean comparison of four fungal colony diameters for each bryophyte species ethanolic extract × fungal species

کد بریوفیت Bryophyte code	گونه بریوفیت Bryophyte species	کد قارچ Fungal code	گونه قارچ Fungal species	میانگین قطر پرگنه Mean of colony diameter (mm)
19	*Warnstorfia exannulata*	1	*Fusarium solani*	78.000 ef
		2	*F. oxysporum*	61.500 l
		3	*Macrophomina phaseolina*	56.000 m
		4	*Pythium* sp.	70.000 i
20	*Didymodon spadiceus*	1	*Fusarium solani*	87.000 b
		2	*F. oxysporum*	73.500 g
		3	*Macrophomina phaseolina*	55.000 m
		4	*Pythium* sp.	70.000 i
21	*Gymnostomum aeruginosum*	1	*Fusarium solani*	79.000 de
		2	*F. oxysporum*	67.500 j
		3	*Macrophomina phaseolina*	67.000 j
		4	*Pythium* sp.	71.500 h
22	*Dumortiera hirsuta*	1	*Fusarium solani*	74.000 g
		2	*F. oxysporum*	53.500 n
		3	*Macrophomina phaseolina*	24.500 q
		4	*Pythium* sp.	39.000 p
23	*Cratoneuron commutatum*	1	*Fusarium solani*	86.500 b
		2	*F. oxysporum*	64.000 k
		3	*Macrophomina phaseolina*	55.000 m
		4	*Pythium* sp.	55.500 m
24	*Plagiomnium rugicum*	1	*Fusarium solani*	82.500 c
		2	*F. oxysporum*	53.000 n
		3	*Macrophomina phaseolina*	77.000 f
		4	*Pythium* sp.	47.000 o
25	*Drepanocladus uncinatus*	1	*Fusarium solani*	90.000 a
		2	*F. oxysporum*	64.000 k
		3	*Macrophomina phaseolina*	80.000 d
		4	*Pythium* sp.	67.500 j
26	*Cratoneuron filicinum*	1	*Fusarium solani*	90.000 a
		2	*F. oxysporum*	60.000 l
		3	*Macrophomina phaseolina*	72.000 h
		4	*Pythium* sp.	64.000 k

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱۲- مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه چهار گونه قارچ برای اثر متقابل گونه قارچ × حجم عصاره

Table 12- Mean comparison of four fungal colony diameters for fungal species × extract volume

کد قارچ Fungal code	گونه قارچ Fungal species	حجم عصاره (میلی‌لیتر) Extract volume (ml)	میانگین قطر پرگنه (میلی‌متر) Mean of colony diameter (mm)
1	*Fusarium solani*	2	87.500 [a]
2	*F. oxysporum*	2	67.250 [d]
3	*Macrophomina phaseolina*	2	70.875 [c]
4	*Pythium* sp.	2	64.875 [e]
1	*Fusarium solani*	4	79.250 [b]
2	*F. oxysporum*	4	57.125 [f]
3	*Macrop\homina phaseolina*	4	50.750 [h]
4	*Pythium* sp.	4	56.250 [g]

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند تفاوتشان در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

Means followed by similar letter are not significantly different at 5% level.

در بررسی حاضر، علاوه بر انتخاب یک گونه قارچ بیماریزا از جنس آلترناریا (*A. alternata*)، گونه‌های دیگری از قارچ‌های بیماریزای گیاهی و متداول در ایران مانند: *Fusarium*، *Macrophomina*، *Pythium* و *Rhizoctonia* در نظر گرفته شد که نتایج به دست آمده جالب و قابل تأمل می‌باشد. Banerjee & Sen (1979) در مقاله خود اظهار داشتند که دو گونه جگرواش برگدار (leafy liverworths) به اسامی: *Pellia epiphylla* و *Dumortiera hirsuta* هیچ تأثیری روی قارچ‌های تحت بررسی نداشتند، حال آن که دو گونه مذکور پس از جمع‌آوری از ایران و بررسی مجدد توسط نگارندگان، نظر آن‌ها را در این مورد (*P. epiphylla* و *D. hirsuta*) تایید نمی‌نماید. این در حالی است که به ترتیب عصاره‌های اتانولی گونه نخست (به مقدار دو میلی‌لیتر) بیشترین تأثیر بازدارندگی را از بین چهار قارچ *A. alternata*، *F. solani*، *M. phaseolina*، *R. solani* روی رشد پرگنه *R. solani* و گونه دوم (با مقادیر دو و چهار میلی‌لیتر) روی هر دو قارچ *F. solani* و *Pythium* sp. نشان داد. لذا

Archive of SID

www.SID.ir

همانطور که ملاحظه می‌شود، با مقایسه دو بررسی فوق‌الذکر، نتایج کاملا متفاوتی به دست آمد. بنابراین، می‌شود نتیجه‌گیری نمود که نتایج حاصله می‌تواند به عواملی نظیر محل جمع‌آوری نمونه‌های بریوفیت (در ارتباط با ترکیبات بیوشیمیایی و آلی جذب شده از محل رویش یعنی خاک، آب و هوا)، از گونه‌ای به گونه دیگر و حتی به فاکتورهایی همچون نوع قارچ مورد آزمایش (اعم از گیاهی یا غیر گیاهی بودن و یا گونه در نظر گرفته شده)، غلظت عصاره، نوع حلال و غیره مربوط باشد، زیرا آزمایش‌ها نشان دادند همواره با افزایش مقدار عصاره، میزان تأثیرپذیری نیز افزایش می‌یافت. Wolters (1964) نیز دو گونه از جگرواش‌های برگدار را به اسامی: *Pellia epiphylla* و *Diplophyllum albicans* مورد آزمایش قرار داد که نتایج به دست آمده در مورد گونه اول با نتایج این بررسی همسو بود. به علاوه، از بین عصاره‌های اتانولی استخراج شده از پنج گونه بریوفیت (کدهای ۲۷ تا ۳۱)، عصاره نمونه‌های ۲۷ و ۲۸ دارای تأثیر ضد قارچی روی تمام قارچ‌های مورد آزمایش بودند در حالی که بیشترین تأثیر را عصاره نمونه شماره ۲۸ (*Drepanocladus aduncus*) روی *R. solani* نشان داد. لذا همانطور که اشاره گردید، در پرگنه این قارچ نیز مانند *A. alternata* توسط بریوفیت‌هایی که قبلا ذکر گردید کاهش رشد چشمگیری مشاهده گردید.

گفتنی است در مورد استفاده و تهیه عصاره‌های مختلف بریوفیت‌ها، بحث‌های مختلفی مطرح است. پودر خشک و استریل بریوفیت‌ها به عنوان ماده ضد قارچی مؤثر نبوده و احتمال می‌رود که مواد ویژه‌ای به صورت ترکیب و پیوند با مواد دیگر در حالت خشک قدرت لازم را جهت نفوذ و انتشار در محیط کشت و تأثیر بهینه روی قارچ‌ها نداشته باشد. بنابراین، لازم است برای انجام اینکار از روش‌هایی مانند دیسک‌گذاری استفاده نمود لذا، باید عصاره‌های مختلفی از این گیاهان تهیه شود. در آزمایش‌های اولیه انجام شده در این بررسی، عصاره‌های مختلف از حلال‌هایی نظیر آنچه Banerjee & Sen (1979) توصیه نموده‌اند مانند آب (خام و جوشانده)، متانول، اتانول، استون، اتر نفت و یا حتی کلروفرم (خام و جوشانده) استفاده گردید، اما در مجموع بهترین نتیجه از عصاره‌های اتانولی به دست آمد. در این آزمایش عصاره آبی خام اثرات ضد قارچی مطلوبی را از خود نشان نداد، حال آن که با جوشاندن عصاره‌های آبی (به مدت سه ساعت)، آثار بازدارندگی آشکار می‌شد. این تأثیرات احتمالاً به حضور

Archive of SID

www.SID.ir

لیگنان‌ها در این گیاهان بستگی دارد که پلیمرهایی کوتاه و قابل استخراج با آب محسوب می‌شوند. عملکرد لیگنان‌ها در بریوفیت‌ها مشابه گیاهان عالی از نوع انتی‌اکسیدان قارچ‌کش، باکتری‌کش و ضد ویروس است (Lewis & Dawin, 1994). اتر نفت نیز به نظر نمی‌رسد حلال مناسبی جهت استخراج مواد ضد قارچی باشد. با وجودی که این حلال به طور صنعتی در مقادیر زیاد مصرف می‌شود، احتمالاً درجه خلوص پایین آن عاملی برای حلالیت نامناسب آن به شمار می‌رود. عصاره متانولی به دلیل قطبی بودنش نیز نمی‌تواند مواد مؤثره را در بریوفیت‌ها جدا سازد، لذا از به کار بردن متانول نیز اجتناب گردید. بنابراین، به نظر می‌رسد که در این خصوص حلال‌های غیرقطبی (به استثنای اتر نفت) می‌توانند اثرات بهتری داشته باشند. عصاره‌های استونی و کلروفرمی (خام و جوشانده) که توسط Madsen & Pates (1952) و Mc Cleary & Walkington (1966) آزمایش شده تا حدودی از موفقیت بیشتری برخوردار بوده ولی طی بررسی‌هایی که توسط آن‌ها صورت گرفت، علیرغم تأثیر عصاره خام کلروفرمی بر قارچ *F. solani*، عصاره جوشانده آن قابلیت بازدارندگی رشد قارچ یاد شده را از دست می‌داد. همسو با پژوهش‌های انجام شده توسط Banerjee & Sen (1979)، در برخی مواقع عصاره‌های حلال‌های آلی (بسته به pH حلال)، نتایج بهتری را نسبت به عصاره‌های آبی نشان می‌دهند. از بین مواد مؤثره‌ای که به سختی در آب محلول بوده ولی در حلال‌های آلی به راحتی قابل حل می‌باشند، می‌توان به اغلب رنگدانه‌ها اشاره نمود، زیرا اغلب آن‌ها به دیواره‌های سلولی متصل بوده و به سختی در آب محلول می‌شوند. این در حالی است که به اعتقاد Mues (1988)، استون و کلروفرم حلال‌هایی مناسب برای رنگدانه‌ها می‌باشند. مطالعات مرفولوژیکی می‌تواند حضور مواد رنگی را در بخش‌های تار و هاگدان در اسپوروفیت بریوفیت‌ها به روشنی آشکار و اثبات نماید.

طبق نتایج به دست آمده، غلظت مؤثر در گونه‌های انتخاب شده از بریوفیت‌هایی که در پژوهش حاضر مورد استفاده قرار گرفتند، برای قارچ‌های مورد مطالعه در خصوص عصاره‌های مختلف کم و بیش یکسان بود، اما تعیین غلظت کاربردی و مقایسه آن‌ها با قدرت انتی بیوتیک‌ها و یا قارچ‌کش‌های متداول نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. از سوی دیگر، تحقیقات کاربردی که بتواند مشخص کند قابلیت انحلال مواد مؤثره توسط این گیاهان در محیط

Archive of SID

www.SID.ir

به صورت اسپری و یا قرص‌هایی مانند کپسول‌های کود شیمیایی که در پای ریـشه گیاهـان بـا آب آبیاری به داخل زمین برده می‌شوند و یا چگونگی توان جذب ریشه در جهت ارتقاء میزان مواد مؤثره بریوفیت‌ها، هنوز جای بحث و تحقیق دارد*.

منابع

BANERJEE, R. D. and P. SEN, 1979. Antibiotic activity of bryophytes. The Bryologist, 82 (2): 141-153.

BOREL, C., D. H. WELTI, I. FERNANDEZ and M. COLMENARES, 1993. Dicranin, an antimicrobial and 15-Lipoxygenase inhibitor from the moss *Dicranum scoparium*. J. Nat. Pr. 56 (7): 1071-1077.

FRAHM, J. P. 2004. Recent development of commercial products from bryophytes. The Bryologist 107 (3): 277-283.

FREY, W., J. P. FRAHM, E. FISCHER and W. LOBIN, 1995. Die Moss-und Farnpflanzen Europas. Sttutgart, Jena, New York (The Liverworts, Mosses and Ferns of Europe. English edition revised & edited by T.L. Blockeel, 2006, 512 pp.).

GLIME, J. M. and D. SAXENA, 1991. Uses of bryophytes, today and tomorrows. New Delhi.

GUNNISON, D. and M. ALEXANDER, 1975. Resistance and susceptibility to decomposition by natural microbial communities. Limnology and Oceanography 20: 64-70.

HEROUT, V. 1975. Recent results in the study of the chemistry of terpenoides. Herba Hung 14: 108-122.

HUNECK, S. 1969. Constituents of mosses, a review. J. Hattori Bot. Lab. 32: 1-15 (in German).

HUNECK, S. and K. SCHREIBER, 1975. Contents of mosses XVII. On the contents of additional hepatics. J. Hattori Bot. Lab. 39: 215-234.

LEWIS, N. G. and L. B. DAWIN, 1994. Evolution of lignan and neolignan biochemical pathways. Am. Chem. Soc. Symp., ser. 562: 202-246.

LORIMER, S. D. and N. B. PERRY, 1994. Antifungal hydroxyacetophenones from the New

* **نشانی نگارندگان:** دکتر سعید شیرزادیان، دکتر همایون افشاری‌آزاد و مهندس جواد خلقانی، موسسه تحقیقـات گیاهپزشکی کشور، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵، ایران.

Archive of SID

www.SID.ir

Zealand Liverwort, *Plagiochila fasciculata*, Planta Medica 60 (4): 386-387.

LORIMER, S. D., N. B. PERRY and R. S. TANGNEY, 1993. An antifungal bibenzyl from the New Zealand liverwort, *Plagiochila stephensoniana*. Bioactivity directed-isolation, synthesis and analysis. J. Nat. Prod. 56: 1444-1450.

MADSEN, G. C. and A. L. PATES, 1952. Occurrence of antimicrobial substances in chlorophyllose plants growing in Florida. Bot. Gaz. 113: 293-300.

Mc CLEARY, J. A. and D. L. WALKINGTON, 1966. Mosses and antibiosis. Rev. Bryol. et Lichénol. 24: 309-314.

Mc CLEARY, J. A., P. S. SYPHERD and D. L. WALKINGTON, 1960. Mosses as possible sources of antibiotics. Science 131: 108.

Mc CLURE, W. and H. A. MILLER, 1967. Moss chemotaxonomy: A survey for flavonoids and the taxonomic implications. Nova Hedwigia 14: 111-125.

MEKURIA, T., P. BLAESER, U. STEINER and J. P. FRAHM, 1998. Effect of moss extracts against phytopathogenic fungi. *In*: W. Laux (ed.), 51. Deutsche Pflanzenschutz Tagung, 5-8, Oktober 1998. Halle/Saale, Mitt. BBA 356: 167-168.

MIRZAEE, M. 1999. Morphological, ontogenetical and antimicrobial studies of some Iranian mosses. PhD theis submitted to the Islamic Azad University, Faculty of Sciense & Research, Tehran, 190 pp. (in Persian with English summary).

MUES, R. 1988. Thin layer chromatography (T.L.C.) of flavonoid compound from bryophytes. *In*: Methods in Bryology 147-156.

PRYCE, R. J. 1972. Phytochemistry 10: 267, 11: 872, 1355, 1759.

SMITH, A. J. E. 1978. Cytogenetics, biosystematics and evolution in the bryophyta. Advances in Botanical Research 6: 195-276.

SMITH, A. J. E. 2004. The Moss flora of Britain and Ireland. 2nd ed.- University Press, Cambridge, 1012 pp.

TADESSE, M. 2002. Characterisation and mode of action of natural plant products against leaf fungal pathogens. Shaker, Aachen.

TUTSCHECK, R. and H. RUDOLPH, 1971. Isolation of crystalline phenols from the cell wall of *Sphagnum magellanicum*. Ber. Deut. Bot. Ges. 84: 309-311 (in German).

WOLTERS, B. 1964. Die Verbreitung antifungaler eigenschaften bei moosen. Planta 62: 88-96.

Archive of SID

www.SID.ir

Address of the authors: Dr. S. SHIRZADIAN, Dr. H. AFSHARI AZAD and Eng. J. KHALGHANI, Iranian Research Institute of Plant Protection, P. O. Box 1454, Tehran 19395, Iran.

Archive of SID

www.SID.ir