مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (٧) العدد(٧) ٢٠٢٣
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (7) No. (7) 2023

الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية الحيوية للمستخلص الكحولي لبتلات الزعفران

د.علاء صبح*

د.لورين أحمد**

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٣/٥/٢٨ . قُبِل للنشر في ٢٠٢٣/٩/٧)

□ ملخّص□

تم في هذا البحث تقدير الفينولات والفلافونيدات في المستخلص الكحولي لبتلات أزهار الزعفران باستخدام حمض الغاليك ومحلول روتين على التوالي، إضافة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص باستخدام اختبار ديفينيل بيكريل هيدرازيل، كما تم تقييم أثر المستخلص الكحولي للبتلات في تثبيط نمو فطري الفيوزاريوم والبنسيليوم على الوسط المغذي PDA في المختبر باستخدام التراكيز التالية (١-٢.٥-٥-١٠-١٥) $mg.ml^{-1}$. بينت النتائج أن كمية الفينولات والفلافونيدات في مستخلص البتلات الكحولي بلغت (٥.١-٢.٧) $mg.g^{-1}$ على التوالي، وكانت أعلى قدرة على تثبيط الجذور الحرة (61%) عند التركيز (٠.٥ $mg.ml^{-1}$). كما بينت النتائج أن جميع تراكيز مستخلص البتلات الكحولية كانت أفضل معنوياً من الشاهد في تثبيط نمو فطري الفيوزاريوم والبنسيليوم، وكان للتركيز ١٥ $mg.ml^{-1}$ القدرة على منع نمو الفطرين بنسبة تثبيط بلغت ١٠٠%.

الكلمات المفتاحية : فينولات، فلافونيدات، الزعفران، جذور حرة، فطريات

قسم تقانة الأغذية ، كلية الهندسة التقنية ،جامعة طرطوس ، طرطوس ، سورية

الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية (GCSAR) ، طرطوس ، سورية

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (٧) العدد(٧) ٢٠٢٣
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (7) No. (7) 2023

Antioxidant and antifungal activity of alcoholic extract saffron petals

Dr .Alaa Soubh *
Dr.Lorin Ahmad **

(Received 28/5/2023 . Accepted 7/9/2023)

□ ABSTRACT

This research examined the determination of both phenols and flavonoids in the alcoholic extract of saffron petals using gallic acid and rutin solution, and estimated the antioxidant efficacy of the extracts using the Diphenyl Becquerel Hydrazyl Test. The effect of ethanolic extracts of saffron petals on inhibiting the growth of fungi (Fusarium) and (Penicillium) on PDA nutrient media was evaluated in vitro using concentrations (1-2.5-5-10-15) $mg.ml^{-1}$ for each Extract. The results showed that the amount of phenols and flavonoids in saffron petals extract reached (5.١ -2.٧) mg.g-1, respectively. Thus, the ability to inhibit free radicals was (61%) at concentration (0.5 mg. ml^{-1}).The results showed that all concentrations of the alcoholic petals extract were significantly better than the control in inhibiting the growth of Fusarium and Penicillium fungi, and the concentration of 15 $mg.ml^{-1}$ had the ability to inhibit the growth of both fungi and the inhibition percentage was 100%.

Key words: phenols, flavonoids, saffron, free radicals, fungi.

Department of Food Technology, Faculty of Technical Engineering, Tartous University, Tartous, Syria
General Commission for Scientific Agriculture Research (GCSAR), Tartus, Syria.

المقدمة:

يعد الزعفران (*Crocus sativus* L.) أحد أهم النباتات الطبية والتوابل العالمية وهو نبات مزهر معمر ينتمي للعائلة الزنبقية تحتوي كل زهرة زعفران على ست بتلات أرجوانية تحيط بثلاثة مياسم قرمزية اللون، تعد المياسم المنتج الرئيسي للزعفران وتحتوي على المواد الفعالة الكروسين والبيكروكروسين والسافرانال التي تملك تأثيرات فعّالة مضادة لمرض السرطان (Mousavi *et al*., 2008). تعد بتلات الزعفران المنتج الثانوي الذي يتم إهماله عادة رغم إنتاجه بكميات كبيرة حيث يصل إنتاج البتلات سنوياً في إيران إلى أكثر من ١٠٠٠٠ طن (Kafi *et al*., 2006). تملك بتلات الزعفران رائحة عطرة وطعم مميز (Zargari, 1981) بينت البحوث أن الجنس النباتي *Crocus* والذي ينتمي له الزعفران، يحتوي العديد من المركبات الفلافونيدية والغليكوزيدية والأنتوسيانينات (Gil *et al*., 2002) هذا وتؤثر هذه المركبات في تركيب ووظيفة الغشاء الخلوي للفطريات وبالتالي تثبيط نموها (Martos *et al*., 2008). يلعب النوع النباتي دوراً مهماً في كمية الفينولات والفلافونيدات حيث كانت أعلى قيمة في النوع C. *flavus* وبلغت بالترتيب (٥٠-٧١ ميكروغرام.ميلي غرام$^{-1}$) وأقل قيمة في النوع C. *biflorus* (٢٠-٣٢) ميكروغرام.ميلي غرام$^{-1}$ (Acar *et al*., 2010). بَين Afrazeh وزملاؤه (٢٠١٤) أن لمستخلص بتلات الزعفران قدرة جيدة على تثبيط الجذور الحرة بسبب احتوائها على مضادات الأكسدة الطبيعية. بينت البحوث أن لمستخلص البتلات دوراً في علاج الالتهاب (Hosseinzadeh and Younesi, 2002) وحالات الاكتئاب(Basti *et al*., 2007) وخفض ضغط الدم (Fatehi *et al*., 2003). تعد الأمراض الفطرية التي تصيب ثمار الفاكهة والخضار في الحقول أو البيوت المحمية من أهم العوامل التي تخفض من نوعيتها وكميتها، حيث يسبب النوع *Fusarium oxysporum* ذبولاً وعائياً وانخفاضاً كبيراً في إنتاجية محصول البندورة المزروع في البيوت المحمية والحقول (Amini and sidovich, 2010). أما فطر *Penicillium* الذي يصيب ثمار الحمضيات الناضجة كالبرتقال واليوسفي سواء في الحقل أو أثناء تخزينها أو شحنها للتصدير، يسبب العفن الأخضر أو الأزرق وبالتالي خسائر كبيرة في المحصول (Boubaker *et al*., 2009). هذا وقد بدأ مؤخراً التوجه نحو استخدام المستخلصات النباتية في مكافحة ممرضات النبات الفطرية، كبدائل آمنة بيئياً للمبيدات الكيميائية التي أصبحت مشكلة رئيسية من مشاكل التلوث للبيئة ولصحة الإنسان، فضلاً عن مقاومة المسببات المرضية لتلك المبيدات(Christaki *et al*., 2012)، وتعد مستخلصات نبات الزعفران أهمها، حيث بيَنت دراسة(Acar *et al*., 2010) أن المستخلص الميتانولي لثلاثة أنواع من الزعفران(*C. - C. biflorus-C. flavus baytopiorum*) له القدرة على تثبيط الفطر *Candida albicans* حيث بلغ معدل النمو القطري للفطر على الترتيب(٨-٦-٤) mm ويعزى التباين في معدل تثبيط الفطر إلى الاختلاف في المحتوى الفينولي. بدأت تنتشر زراعة الزعفران في سورية في معظم المحافظات السورية بهدف إكثار الكورمات والحصول على المياسم باهظة الثمن، أما بتلات الأزهار فإنها تهمل دون فائدة وهنا تكمن أهمية البحث الاقتصادية في الاستثمار الأمثل لبتلات أزهار الزعفران المهملة عادة والتي سعرها منخفض جداً مقارنة بسعر مياسم الزعفران، وكذلك توسيع الفائدة الطبية من خلال جمع البتلات وتجفيفها وحفظها لتقييم فاعليتها المضادة للأكسدة وفاعليتها في مكافحة الأمراض الفطرية.

أهداف البحث:

١- تقدير محتوى المستخلص الإيتانولي لبتلات الزعفران من الفينولات والفلافونيدات وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة لتراكيز مختلفة من المستخلص الإيتانولي.

٢- دراسة تأثير المستخلص الإيتانولي لبتلات الزعفران في نمو كلٍ من الفطرين (*Fusarium oxysporum*) و (*Penicillium italicum*) على الوسط المغذي(PDA).

مواد البحث وطرائقه:

١- مكان تنفيذ البحث:

نُفذ هذا البحث في مخابر كلية الصيدلة في جامعة طرطوس خلال العام ٢٠٢٢.

٢- المادة النباتية:

تم الحصول على البتلات (شكل ١) من أزهار الزعفران المزروع في طرطوس (بيت كمونة) النوع المزروع (*Crocus sativus* L.)، حيث تم تجفيف البتلات هوائياً لمدة ٥-٧ أيام على درجة حرارة المختبر في الظل، ثم طحنت العينات لتحضير المستخلص.

شكل (١): بتلات أزهار الزعفران المزروع

٣- الفطريات المستخدمة:

- ✓ *Fusarium oxysporum*
- ✓ *Penicillium italicum*

تم الحصول على الفطريات من قسم المكافحة الحيوية في كلية الزراعة بجامعة دمشق.

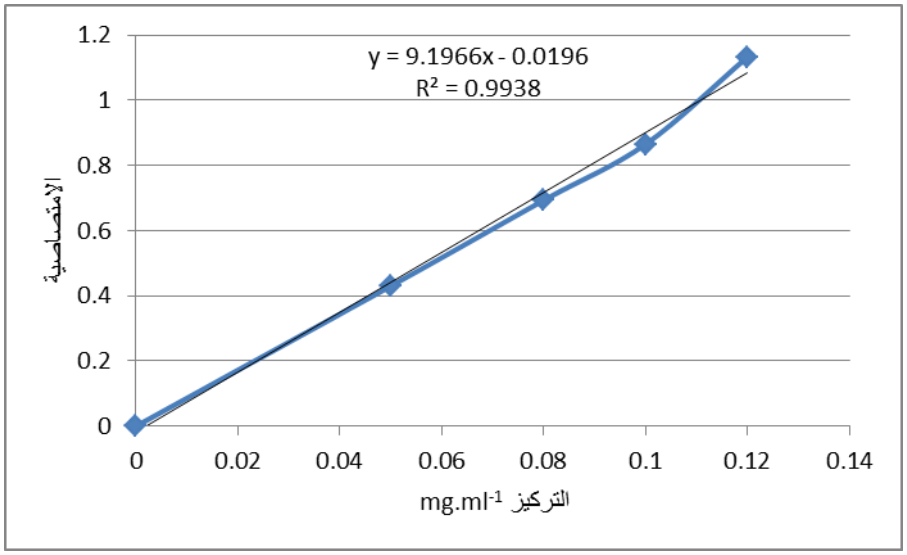
تحضير المستخلص الكحولي للبتلات:

تمت عملية الاستخلاص بالنقع وفق الطريقة الموصوفة من قبل Hosseinzadeh و Khosravan(٢٠٠٢) مع بعض التعديلات والتي تعتمد على أخذ ٥٠ g من العينة الجافة وإضافة ٥٠٠ ميلي ليتر من الإيتانول ٩٥% وخُلط جيداً باستعمال المحرك المغناطيسي ثم حفظ لمدة ٢٤ ساعة في درجة حرارة المخبر، بعدها رشح المزيج بواسطة الشاش وأهمل الراسب. وضع الراشح في جهاز الطرد المركزي(Centrifuge 5430 R) بسرعة ٣٠٠٠ دورة/دقيقة لمدة ٣٠ دقيقة، وكررت العملية ثلاث مرات لضمان التخلص من الرواسب ثم رشح باستعمال ورق ترشيح Whatman No. 1 وتم نقل الراشح إلى حوجلة المبخر الدوراني (Rotary evaporator RE 300) للتخلص من المذيب العضوي عند درجة حرارة ٣٥-٤٠°C فحصلنا على مستخلص خام ثم وضع في عبوة معقمة وحفظت في البراد على درجة ٤ C ° لحين الاستعمال.

٤- التقدير الكمي للفينولات في المستخلص:

تم تحضير تركيز قدره ٢ $mg.ml^{-1}$، أخذ ٠.٥ ميلي ليتر من المستخلص وأضيف لها ٢ ميلي ليتر من محلول كربونات الصوديوم ٧.٥% و٢ ميلي ليتر من كاشف فولين سيوكالتيو الممدد عشر مرات وخلط جيداً وترك في الظلام في حرارة الغرفة وبعد ساعة أخذت القراءة بواسطة جهاز السبيكتروفوتومتر على طول الموجة ٧٦٠ نانومتر وفق طريقة (Quettier *et al*., 2000).

تم تحضير تركيز قياسي من حمض الغاليك في الكحول ثم حضرت منه محاليل ممدة بتراكيز تتراوح بين (٠.٠٠٥-٠.٢) $mg.ml^{-1}$ في أنابيب اختبار، ثم أخذ ٠.٥ ميلي ليتر من كل تركيز وأضيف لها ٢.٥ ميلي ليتر من كاشف فولين سيوكالتيو الممدد عشر مرات وأضيف ٢ ميلي ليتر من محلول كربونات الصوديوم ٧.٥% ثم خلط جيداً وترك في الظلام في حرارة الغرفة وبعد ساعة أخذت القراءة بواسطة جهاز السبيكتروفوتومتر على طول الموجة ٧٦٠ نانومتر وانطلاقاً من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك رسم المنحني القياسي لامتصاصية حمض الغاليك بدلالة التركيز (شكل ٢) ومنه قدرت كمية الفينولات.

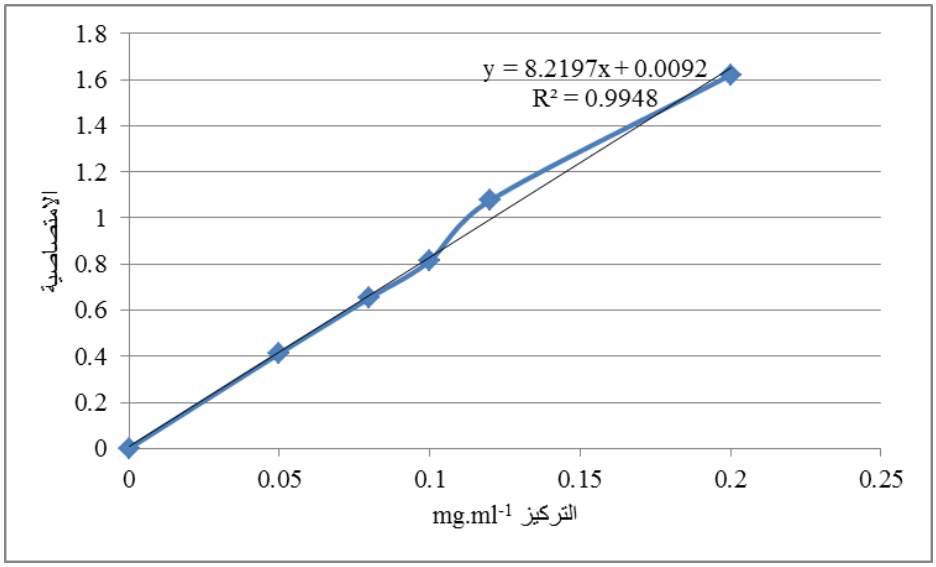


شكل (٢): منحني الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك

٥- التقدير الكمي للفلافونويدات في المستخلص:

تم تحضير تركيز قدره ٢ $mg.ml^{-1}$، ثم أخذ ١ ml من المستخلص وأضيف له ١ ml كلور الألمنيوم ٢% وخلط جيداً وبعد ٤٠ دقيقة تم امتصاص العينة على طول الموجة ٤٥٠ نانومتر وفق طريقة (Stankovic, 2011).

تم تحضير محاليل ممدة من حمض الروتين في الكحول بتراكيز تتراوح بين (٠.٠٠٥-٠.٢) $mg.ml^{-1}$ في أنابيب اختبار، ثم أخذ ١ ml من كل تركيز وأضيف لها ١ ml كلور الألمنيوم ٢% وخلط جيداً وبعد ٤٠ دقيقة أخذت القراءة على طول الموجة ٤٥٠ نانومتر وانطلاقاً من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الروتين رسم المنحني القياسي لامتصاصية حمض الروتين بدلالة التركيز (شكل ٣) ومنه قدرت كمية الفلافونيدات.



شكل (٣): منحني الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الروتين

٦- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام طريقة DPPH :

تم تحضير محلول DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil) في الكحول، وذلك بأخذ كتلة قدرها ٢ ميلي غرام من DPPH مذابة في ٥٠ ml من الإتانول ٩٥%. ثم تم تحضير محاليل مخففة بتراكيز مختلفة من المستخلص، أخذ من كل تركيز ١ ml وأضيف له ١ ml من DPPH في أنابيب زجاجية، تمت مجانسة المحلول وترك لمدة ٣٠ دقيقة في الظلام، بعدها تمت قراءة الامتصاصية بواسطة جهاز السبكتروفوتومتر على طول موجة ٥١٧ نانومتر وفق طريقة (Hamood Al-Saeedi and Amzad Hossain, 2015).

وحسبت النسبة المئوية للقدرة على تثبيط الجذور الحرة من المعادلة التالية .

$AA\% = (A_0-A_1/ A_0) *100$

A_0 (DPPH) الامتصاصية لعينة الشاهد

A_1 الامتصاصية لعينة المستخلص

٧- تقييم فاعلية مستخلص البتلات في تثبيط نمو الفطريات على الوسط المغذي:

تم تحضير محلول قياسي من مستخلص البتلات بتركيز (٥٠) $mg.ml^{-1}$ وحُضر منه باقي التخافيف (١٥-١٠-٥-٢.٥-١) $mg.ml^{-1}$ بأخذ حجم معين من المحلول القياسي وإكماله إلى الحجم المطلوب بإضافة المذيب وذلك باستخدام قانون التخفيف: التركيز*الحجم (قبل التخفيف)= التركيز*الحجم (بعد التخفيف)، ثم تم اختبار فاعلية المستخلص في تثبيط الفطريات المختبرة على مزارع الآغار بالطريقة الموصوفة من قبل Falck (١٩٠٧)، حيث تم تحضير دوارق سعة ٢٥٠ ml ووضع فيها ١٠٠ ml مستنبت غذائي ثم سُدت فوهتها بالقطن الطبي وبورق الألمنيوم الرقيق وعقمت في جهاز الأوتوكلاف على درجة حرارة ١٢١ C° لمدة ٢٠ دقيقة وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط وقبل التصلب أضيفت تراكيز مختلفة من المستخلص (١٥-١٠-٥-٢.٥-١) $mg.ml^{-1}$ إلى هذه الدوارق الحاوية على الوسط الزرعي، بعدها رُجت بشكل جيد لضمان تجانس المستخلص مع الوسط الزرعي ثم صُبت الأوساط الغذائية في أطباق بتري معقمة قطرها ٩ cm ، أما معاملة الشاهد استخدم فيها وسط غذائي غير معامل، وتركت الأطباق حتى تتصلب، وتم بعد ذلك عدوى الأطباق بالفطور المدروسة بوضع قرص 5 mm من ميسيليوم الفطر، وبمعدل ثلاثة أطباق لكل تركيز ثم وضعت جميع الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة ٢٥ C°، وبعد وصول نمو الفطر في

معاملة الشاهد إلى حافة الطبق، أُخرجت الأطباق من الحاضنة وتم قياس معدل النمو لقطرين متعامدين لنمو المستعمرة يمران من مركز الطبق وذلك بأخذ متوسط لطول القطرين ثم حُسبت النسبة المئوية للتثبيط وفقاً لمعادلة (Singh and Tripathi, 1999):

$Rr=(R_1_R_2/R_1)*100$

R_1 معدل نمو الفطر في معاملة الشاهد

R_2 معدل نمو الفطر في معاملة المستخلص

التحليل الإحصائي:

تم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام برنامج Costat 6.4، نفذت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل(CRD) بثلاثة مكررات لكل معاملة، وتم إجراء اختبار أقل فرق معنوي(LSD) لإيجاد الفروق المعنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية ٠.٠١.

النتائج والمناقشة:

١- التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات في مستخلص بتلات الزعفران:

نلاحظ من الجدول (١) أن كمية الفينولات بلغت في مستخلص بتلات الزعفران (٥.١) $mg.g^{-1}$ حمض الغاليك مكافئة لغرام من المادة الجافة وهي أعلى معنوياً من كمية الفلافونويدات التي بلغت (٢.٧) $mg.g^{-1}$ حمض الروتين مكافئة لغرام من المادة الجافة، وهذا ينطبق مع ماتوصل إليه Bagherzade و Manzaritavakoli (٢٠١٦) في إيران حيث بلغت كمية الفينولات في مستخلص البتلات (8.05 $mg.g^{-1}$) وكمية الفلافونويدات (4.73 $mg.g^{-1}$). بلغت كمية الفينولات في مستخلص البتلات الإيتانولي في بحثنا (٥.١ $mg.g^{-1}$) وهو أعلى من الكمية المقدرة من قبل Termentzi و Kokkalou (٢٠٠٨) حيث بلغت (٣.٤٢ $mg.g^{-1}$) في المستخلص الميتانولي ويعزى ذلك إلى الاختلاف في المذيب المستخدم، لكن كانت أقل من الكمية المقدرة من قبل Niazmand و Ahmadia (2016) وبلغت (١٣٨٠ $mg.100g^{-1}$) في مستخلص البتلات المحضر بطريقة الأمواج فوق الصوتية وهنا تلعب طريقة الاستخلاص دوراً مهماً في تحرر كمية الفينولات حيث أنها أعلى في الاستخراج بالأمواج فوق الصوتية مقارنة بطريقة النقع (Goli *et al.*, 2012).

جدول(١): محتوى مستخلص البتلات الكحولي من الفينولات والفلافونيدات

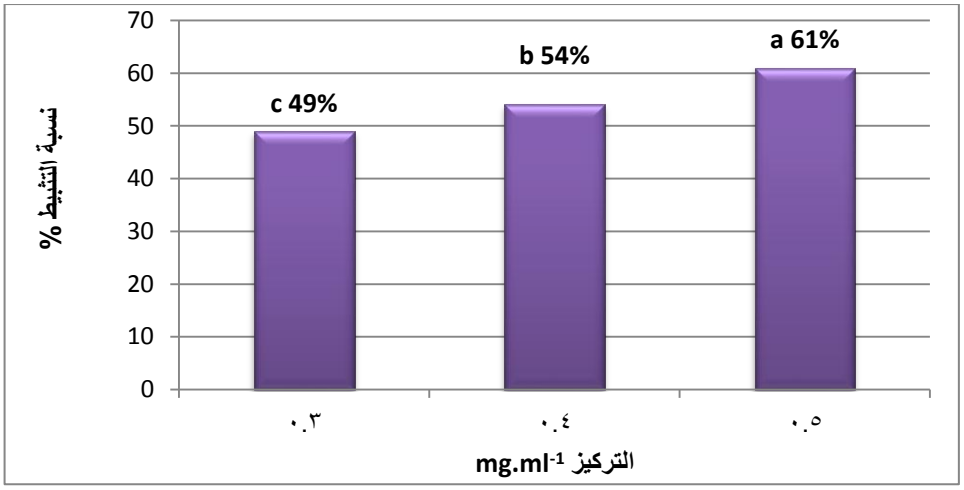
الجزء النباتي	متوسط كمية الفينولات $mg.g^{-1}$ مادة جافة	متوسط كمية الفلافونيدات $mg.g^{-1}$ مادة جافة
البتلات	^{a}٥.١	^{b}٢.٧
Sig.t	٠.٠١٧	

٢- تقدير نسبة تثبيط الجذور الحرة في مستخلص بتلات الزعفران:

نلاحظ من الشكل (4) أن نسبة تثبيط الجذور الحرة لمستخلص البتلات الإيتانولي بلغت (61%) عند التركيز ٠.٥ $mg.g^{-1}$ و(49%) عند التركيز ٠.٣ $mg.g^{-1}$ وهي أعلى من النسبة المقدرة من قبل Tajik وأخرون (٢٠١٧) لمستخلص البتلات الميتانولي حيث بلغت بتركيز ٥٠٠ ميكروغرام. ميلي ليتر $^{-1}$ (٦٠%) وعند التركيز ٣٠٠ ميكروغرام. ميلي ليتر $^{-1}$ (٣٧%) ويعزى ذلك إلى الإنخفاض في المحتوى الفينولي والفلافونويدي حيث بلغ (٤.٣٥-١.٧٨) $mg.g^{-1}$ على التوالي.

كما تبين النتائج أن هناك علاقة طردية بين القدرة على تثبيط الجذور الحرة وتركيز المستخلص، إذ تبين أن القدرة على تثبيط الجذور الحرة زادت مع زيادة تركيز المستخلص وهذا يتفق مع ماتوصل إليه Jadouali وأخرون (٢٠١٨) حيث ازدادت نسبة تثبيط الجذور الحرة لمستخلص البتلات من ١٠% عند التركيز ٥٠ ميكروغرام. ميلي ليتر $^{-1}$ إلى ٢٢% عند التركيز ٢٠٠ ميكروغرام.ميلي ليتر $^{-1}$.

لوحظ أن نسبة تثبيط الجذور الحرة (61%) عند التركيز ٠.٥ $mg.g^{-1}$ أقل من نسبة التثبيط المقدرة من قبل Goli وأخرون (٢٠١٢) حيث بلغت (٩١%) عند نفس التركيز ويعزى ذلك إلى كفاءة طريقة حمض اللينوليك المتبعة في تقدير نسبة تثبيط الجذور الحرة. هذا وتختلف نسبة تثبيط الجذور الحرة بشكل أساسي حسب الظروف البيئية، النوع النباتي (الجنس) وطريقة التحضير والاستخلاص وكذلك الجزء النباتي المستخدم والمحتوى الفينولي والفلافونيدي (Tajik *et al.*, 2017).

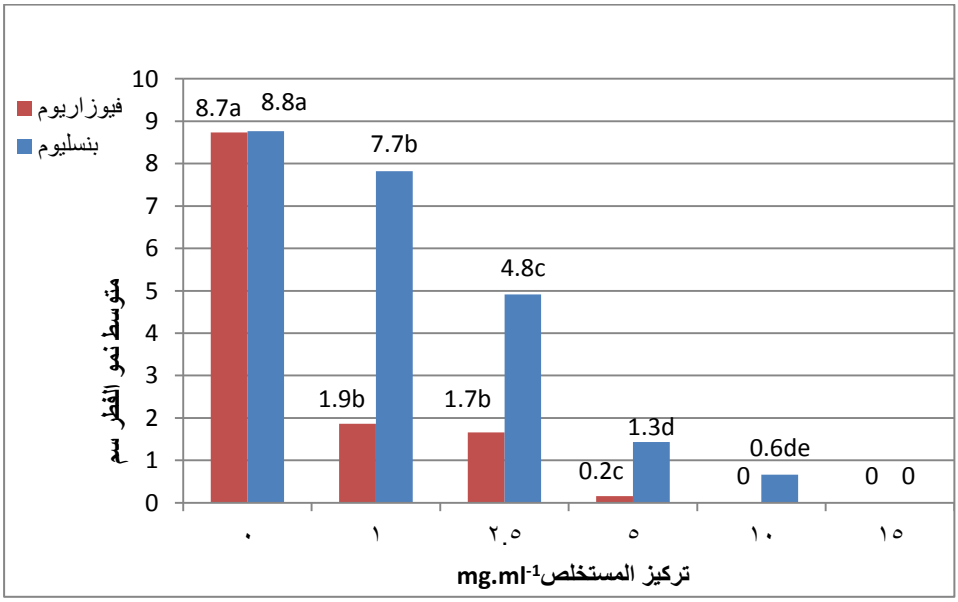


شكل (4): نسبة تثبيط الجذور الحرة في مستخلص بتلات الزعفران
قيمة LSD=٣.٣٣

٣- تقييم فاعلية المستخلص الكحولي في تثبيط نمو الفطريات على الوسط المغذي:

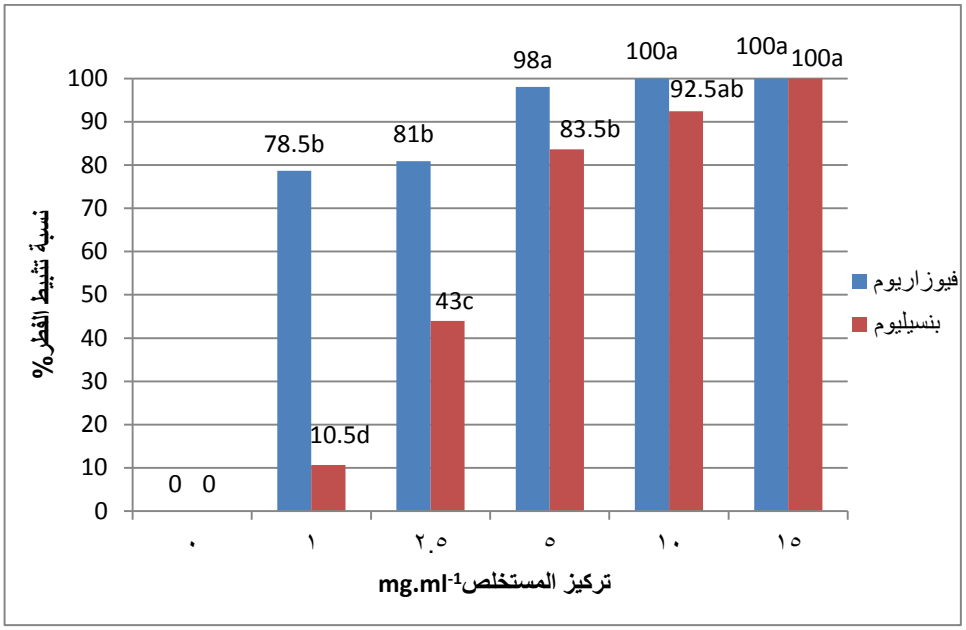
تشير النتائج في الشكل(5) إلى تفوق جميع تراكيز المستخلص الإيتانولي معنوياً على الشاهد (بدون مستخلص) بالنسبة لمتوسط نمو فطري الفيوزاريوم والبنسيليوم، وقد حقق التركيز ١٠ و١٥ $mg.ml^{-1}$ للمستخلص الكحولي التثبيط التام لنمو فطر الفيوزاريوم، وتفوق التركيز ١٥ $mg.ml^{-1}$ للمستخلص الإيتانولي على باقي التراكيز في تثبيط فطر البنسيليوم وبالتالي فإن لمستخلص بتلات الزعفران أثراً إيجابياً في تثبيط نمو فطر البنسيليوم، وتتفق هذه النتائج مع نتائج Hammami وأخرون (٢٠٢٠) حيث أثبت أن لمستخلص أوراق وكورمات الزعفران أثراً معنوياً في خفض معدل نمو ميسيليوم فطر البنسيليوم. وتعزى فعالية مستخلصات البتلات ضد الفطور إلى استخدام الخلاصات الخام (تآزرالمركبات مع بعضها) وليس مركبات معزولة بشكل

مجزأ(Sitara *et al.*, 2008) فالتأثير المتكامل لمزيج المركبات يخفض مقاومة الممرضات لها (Yazdani *et al.*, 2011). كما نلاحظ من الشكل(5) أن معدل نمو الفطرين انخفض طرداً مع زيادة التركيز وهذا ما أكده Meraji وأخرون (٢٠١٨) في أن الكتلة الحيوية للفطر *F. oxysporum* تنخفض عند معاملة الفطر بتراكيز مرتفعة من مستخلص أزهار الخزامى وإكليل الجبل. كما تشير النتائج في الشكل(6) إلى تفوق جميع تراكيز المستخلص الإيتانولي معنوياً على الشاهد في نسبة تثبيط الفطرين، وحقق التركيز ١٠ و ١٥ $mg.ml^{-1}$ تثبيط تام لنمو فطر الفيوزاريوم ١٠٠%. بينما حقق التركيز ١٥ $mg.ml^{-1}$ تثبيط تام لنمو فطر البنسيليوم ١٠٠%. بيَن Rubio-Moraga وأخرون (٢٠١٣) أن لمستخلص كورمات الزعفران الكحولي أثراً في تثبيط فطر البنسيليوم حيث بلغت نسبة تثبيط الفطر عند التركيز ١٠ $mg.ml^{-1}$ تقريباً ١٥% وهي أقل من نسبة التثبيط للمستخلص الكحولي (92.5%) عند نفس التركيز، وهذا يتفق مع نتائج Hammami وأخرون (٢٠٢٠) في أن معدل التثبيط لمستخلص أوراق الزعفران أقل منه للكورمات وذلك لاحتواء الكورمات على مقادير مرتفعة من المركبات الثانوية مثل التربينويد والصابونين مقارنة بالأوراق.



شكل(5):تأثير المستخلص الكحولي للبتلات في نمو فطري الفيوزاريوم والبنسيليوم

	فيوزاريوم	بنسيليوم
$LSD_{0.01}$	0.46	0.83



شكل(6):تأثير المستخلص الكحولي للبتلات في نسبة تثبيط فطري الفيوزاريوم والبنسيليوم

	فيوزاريوم	بنسيليوم
$LSD_{0.01}$	4.40	9.53

الاستنتاجات:

- بينت النتائج أن مستخلص بتلات الزعفران الإيتانولي يحتوي على كمية من الفينولات بلغت (5.1) $mg.ml^{-1}$ والتي أظهرت قدرة عالية على تثبيط الجذور الحرة بنسبة ٦١ % عند التركيز ٠.٥ $mg.ml^{-1}$.
- أظهر المستخلص فعالية قوية في تثبيط نمو الفطريات *F. oxysporum* و *P.italicum*، إذ كانت نسبة تثبيط الفطريات المختبرة أعلى من ٩٢% عند التركيز ١٠ $mg.ml^{-1}$.

التوصيات:

- متابعة الدراسات من أجل معرفة طرائق الاستخلاص المثلى والتراكيز المناسبة في التطبيقات العملية.
- الاستفادة من مستخلص بتلات الزعفران في مجال التصنيع الغذائي والدوائي كمضاد أكسدة وقدرة مضادة للميكروبات.
- استخدام مستخلص البتلات في المكافحة الفطرية للمزروعات.

Refrences:

1. Acar, G. MercanDogan, N. Emin Duru, M. Kıvrak, I. 2010, *Phenolic profiles,antimicrobial and antioxidant activityof the various extracts of Crocus species in Anatolia*. Afr. J. Microbiol, 4 (11), 1154-1161.

2. Afrazeh, Z. Boland, M. Khorshidi, M. and Mohammadi Nafchi, A. 2014, *Evaluation of antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts (methanol,ethanol) saffron petals*. Saffron Agronomy & Technology, 2(3), 231-236.

3. Akhtar, N. Anjum, T. and Jabeen, R. 2013, *Isolation and identification of storage fungi from citrus sampled from major growing areas of Punjab*, Pakistan. Int. J. Agric. Biol, 15, 1283–1288.

4. Amini, J. and Sidovich, D. 2010, *The effects of fungicides on Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici associated with fusarium wilt of tomato*, Journal of Plant Protection on Research, Iran, 50(2), 172-173.

5. Bagherzade, G. and Manzaritavakoli, M. 2016, *Qualitative and Quantitative Investigation of Phytochemical Factors of Wastage of Crocus Sativus L. and Determination of Anthocyanin Content using Ultrasound Waves*, Journal of Saffron Research, Iran, 4(2), 149-158.

6. Basti, A.A. Moshiri, E. Noorbala, A.A. Jamshidi, A.H. Abbasi, S.H. and Akhondzadeh, S. 2007, *Comparison of petal of Crocus sativus L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients*: a pilot double-blind randomized trial. Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol.Psychiatry, Iran, 31(2), 439-442.

7. Booth, C. 1984, *The Fusarium problem: Historical, economic, and taxonomic aspects*, The Applied Mycology of *Fusarium*.1-13. Cambridge: Britain. Cambridge University.

8. Boubaker, H. Saadi, B. Boudyach, H. and Benaoumar, A. 2009, *Sensitivity of Penicillium digitatum and P. italicum to Imazalil and Thialbendazole in Morocco.* Plant Pathology Journal, Morocco, 8(4), 152-158.

9. Christaki, E. Bonos, E. Giannenas, I. and Florou-Paneri, P. 2012, *Aromatic Plants as a source of bioactive compounds.* Agriculture. 2, 228-243. Thessaloniki: Greece. University of Thessaloniki.

10. Dimond, A. E. Davis, D. Chapman, R. A. and Stoddard, E. M. 1952, *Plant chemotherapy as evaluated by the Fusarium wilt assay on tomato*. The Connecticul Agric. Exp. St, Bulletin. 557.

11. Domsch, Klaus Heinz and Gams,Walter.(1980).Compendium of soil fungi. California.Warner press. 1229 p.

12. Falck, R. 1907, *Walchstumesetze, Wachstumtaktoren und temperature wertter Holzerstercn-den*. Mycelien., 1 , 153-154.

13. Fatehi, M. Rashidabady, T. Fatehi-Hassanabad, Z. 2003, *Effects of Crocus sativus petals' extract on rat blood pressure and on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum*, J. Ethnopharmacol, 84(2), 199-203.

14. Gil, M.I. Tomás-Barberán, F.A. Hess-Pierce, B. and Kader, A.A. 2002, *Antioxidant capacities, phenolic compounds، carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 4976-4982.

15. Goli, S.A.H. Mokhtari, F. and Rahimmalek, M. 2012, *Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (Crocus sativus L.) petal*. J Agric Sci, 4, 175–181.

16. Hammami, H. Jahani, M. Shoshtari, M. and Noferesti, F. 2020, *Evaluation of Allelopathic and Antifungal Effects of Different Concentrations of Aqueous Leaves and Corm Extracts of Saffron (Crocus sativus L.) on Common Purslane and Penicillium sp*. Journal of Saffron Research, Iran, 8(2), 255-267.

17. Hamood Al-Saeedi, A. and Amzad Hossain, M. 2015, *Total phenols,* total *flavonoids contents and free radical scavenging activity of seeds crude extracts of pigeon pea traditionally used in Oman for the treatment of several chronic diseases*.Asian Pac. J. Trop. Dis, 5 (4), 316–321.

18. Hosseinzadeh, H. and Khosravan, V. 2002, *Anticonvulsant effects aqueous and ethanolic extracts of Crocus sativus L. stigmas in mice*. Arch. Iran. Med, 5, 44-47.

19. Hosseinzadeh, H. and Younesi, H.M. 2002, *Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Crocus sativus L. stigma and petal extracts in mice*. BMC Pharmacol , 2(1), 1-8.

20. Jadouali, S.M. Atifi, H. Bouzoubaâ, Z. Majourhat, K. Gharby, S. Achemchem, F. Elmoslih, A. Laknifli, A. and Mamouni, R. 2018, *Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of Moroccan Crocus sativus L petals and leaves*. Journal of Materials and Environmental Sciences, 9(1), 113-118.

21. Kafi, M. Kakhki, A. H. and Karbasi, A. 2006, *Saffron (crocus sativus L.) Production and Processing: Historical Background, Economy, Acreage, production, yield and uses*. Science Publisher, Enfield, p.39-57.

22. Martos, V. Navajas, R. Lopezi, F and Alvarez, P. 2007, *Antifungal activity of thyme , clove and oregano essential oils*. J Food Safety, Spain, 27, 91-101.

23. Meraji, H. S. Mohammadi, M. Salek Seyfi, K. Hazbipour, S and Moradi, M . 2018, *Control of two species of fusarium fungi by medicinal plants.* Plant Protection Journal, Iran, 9 (1), 45-58.

24. Mousavi, SH. Afshari, JT. & Brook, A. 2008, *Study of Cytotoxic Effects of Saffron in MCF-7 Cells*. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 4(4), 261-268.

25. Niazmand, R. and Ahmadian-Kouchaksaraie, Z. 2016, *Extraction of effective compounds of saffron petals with the help of ultrasound waves and optimization of its extraction conditions*. Journal of New Food Technologies,13, 121-135.

26. Quettier, D. Gressier, B. Vasseur, J. Dine, T. Brunet, C. Luyckx, M. Cayin, J. Bailleul, F. Trotin, F. 2000, *Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) hulls and flour*. J. Ethnopharmacol, 72(1-2), 35-42.

27. Rubio-Moraga, Á. Gómez-Gómez, L. Trapero, A. Castro-Díaz, N. and Ahrazem, O. 2013, *Saffron corm as a natural source of fungicides: The role of saponins in the underground*. Indus crops prod, Spain, 49, 915-921.

28. Singh, J and Tripathi, N. N. 1999, *Inhibition of storage fungi of blackgram (Vigna mungo L.) by some essential*. Flavour Fragrance J, India, 14 (1), 14.

29. Sitara, U. Niaz, I. Naseem, J. and Sultana, N. 2008, *Antifungal effect of essential oils on In vitro growth of pathogenic fungi*. Pakistan Journal of Botany, 40, 409-414.

30. Stankovic, M.S. 2011, *Total Phenolic Content, Flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. extracts*.Kragujevac J. Sci, 33, 63-72.

31. Tajik, S. Zarinkamar, F. and Niknam, V. 2017, *Evaluation of antioxidant activity and determination of phenolic content of saffron organs*. Biotechnology of Tarbiat Modarres University, 8(3), 127-138.

32. Termentzi, A. & Kokkalou, E. 2008, *LC-DAD-MS (ESI+) analysis and antioxidant capacity of crocus sativus petal extracts*. Planta Medica, 74, 573-581.

33. Yazdani, D. Tan, H.Y. Zainal Abidin, M and Jaganath, I. 2011, *A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi*. Journal of Medicinal Plants Research, Malaysia, 5, 6584-6589.

34. Zargari, A. 1981, *Medicinal Plants*. University of Tehran Publication. 574 p.