



Evaluation of Diversity in some Phytochemical Characteristics and Antibacterial Effects of Extract of Iranian Cultivars of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.)

Sh. Taghipour¹, A. Ehtesham Nia^{2*}, H. Khodayari³, H. Mumivand⁴

Received: 17-03-2021

Revised: 17-07-2021

Accepted: 08-08-2021

Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:

Tagipour Sh., Ehtesham Nia A., Khodayari H., and Mumivand H. 2022. Evaluation of Diversity in some Phytochemical Characteristics and Antibacterial Effects of Extract of Iranian Cultivars of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.). Journal of Horticultural Science 36(1): 149-161. (In Persian with English abstract)

DOI: [10.22067/JHS.2021.68860.1019](https://doi.org/10.22067/JHS.2021.68860.1019)

Introduction

Due to their pleasant and soothing taste and odor, attractive colors, and medicinal purposes, *Chrysanthemum morifolium* flowers have been widely used as food, tea, ornamentation, and medicine. It has been reported that *C. morifolium* can reduce hyperactivity of the liver, improve eyesight and regulate cellular immunity. Pharmacological investigations have shown that Flo's chrysanthemum exhibits antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and heart-protective characteristics. Previous phytochemical studies on caffeic acid derivatives, flavonoids, triterpenoids, glycosides and alkaloids have been isolated from Flo's chrysanthemum. In this study, chrysanthemum cultivars were evaluated in terms of having secondary compounds and desirable medicinal properties, as well as antibacterial effects to introduce superior cultivars and purposeful planning for breeding research. The purpose of the present study, 25 cultivars of *C. morifolium* were compared in terms of essential oil content, leaves total phenolic, flavonoid and antioxidant activity.

Materials and Methods

In this experiment, 25 chrysanthemum cultivars were studied in terms of essential oil percentage, antioxidant index, total phenol and flavonoid content and antibacterial effects in a randomized complete block design in Lorestan University research farm in the year 2016. Essential oil was extracted from dried flowers in the shade using a Clevenger apparatus for 3 hours. Evaluation of antioxidant activity of the extract was measured by DPPH method based on the method of Kulisic et al. (2004). The amount of flavonoids was measured by aluminum chloride and total phenol by Folin - Ciocalteu reagent colorimetric. Ward analysis was done to classify the cultivars.

Results and Discussion

The results of analysis of variance showed that the studied chrysanthemum cultivars had significant differences in terms of all studied phytochemical traits. According to the obtained results, among different cultivars, the total amount of phenolic compounds is between 14.52-47.90 mg/g dry weight, the total flavonoid content is between 11.59-55.62 mg/g DW and IC₅₀ index varied between 83.92 and 257.43 µg/ml. The highest amount of total phenol was present in Avadis and Dila cultivars (45.86-47.90 mg/g dry weight), while Yasamin cultivar (14.52 mg/g DW) had the lowest amount. Also, in terms of total flavonoid content, Golnar and Farahnaz cultivars had the highest total flavonoid content with 55.62 and 53.01 mg quercetin/g DW, respectively. Cluster

1, 2 and 4- Ph.D. Student, Associate Professor and Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: Ehteshamnia.ab@lu.ac.ir)

3- Assistant Professor of Biology, Faculty of Basic Sciences, Lorestan University, Iran

analysis divided all studied cultivars into five groups. The percentage of essential oil among different cultivars varied between 0.41 to 0.62% and a high variability was observed in terms of the amount of essential oil in the studied cultivars. The highest percentage of essential oil was related to Farhnaz and Elmira2 cultivars. In general, the results showed high antioxidant activity of most cultivars. Therefore, chrysanthemum extract can be introduced as a suitable source of natural antioxidants. Also in this study, Paridokht, Sana and Ashraf cultivars were studied in terms of antioxidant and antibacterial index and Farahnaz and Elmira 2 cultivars appeared superior to other cultivars in terms of essential oil production. Hedaei *et al.* (2018) studied evaluation of some bioactive compounds and antioxidant activity of leaf methanolic extract and flower essential oil content from different cultivars of *Chrysanthemum morifolium*, in this review, total phenol and flavonoid contents and IC₅₀ values in different cultivars were ranged from 17.63-33.20 mg/g DW, 12.62-53.17 mg quercetin/g, and 54-228 µg/ml respectively. The highest phenolic content was in cultivar “Poya3” (33.20 mg/g DW), whereas the cultivar “Sahand2” (17.63 mg/g DW) contained the lowest value. Also, in terms of total flavonoid content, cultivars “Marmar” and “Sahand 2” had the highest and the lowest flavonoids with 53.17 and 12.62 mg quercetin per gram, respectively.

Conclusion

The results of the present study indicate a significant difference between different cultivars in terms of the total amount of phenolic, flavonoid and antioxidant compounds that the existence of such diversity can be the role of cultivar and genetics in the production of these compounds. According to the results of this study, chrysanthemum cultivars with desirable levels of phenolic and flavonoid compounds can be used as a source of natural antioxidants as an alternative to synthetic antioxidants. In this study, Sana, Paridokht and Ashraf cultivars appeared superior to the existing genotypes in terms of phytochemical and antibacterial traits. The results of this study can be used to select the correct parents for purposeful crosses in subsequent chrysanthemum breeding programs in order to improve the phytochemical traits of existing cultivars.

Keywords: Antioxidant activity, Chrysanthemum, Essential oil, Flavonoids, Phenol

ارزیابی تنوع برخی از شاخص‌های فیتوشیمیایی و اثرات ضدباکتریایی در عصاره ارقام ایرانی گل داوودی (*Dendranthema morifolium* Ramat.)

شیرین تقی پور^۱ - عبدالله احتشام‌نیا^{۲*} - حامد خدایاری^۳ - حسن مومیوند^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷

چکیده

گل داوودی به دلیل حضور ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضدباکتری، ضد التهاب و ضد ویروسی در ارقام مختلف به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی در عرضه جهانی محسوب می‌گردد. در این آزمایش، ۲۵ رقم گل داوودی از نظر درصد اسانس، شاخص آنتی‌اکسیدانی، میزان فنول و فلاونوئید کل و اثرات ضدباکتریایی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه لرستان در سال ۱۳۹۵ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارقام داوودی مورد مطالعه از نظر شاخص آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، میزان فنول و فلاونوئید کل دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بودند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در میان ارقام مختلف میزان کل ترکیبات فنلی بین ۴۷/۹۰-۱۴/۵۲ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک، میزان فلاونوئید کل بین ۵۵/۶۲-۱۱/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک و IC₅₀ بین ۲۲۸-۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بودند. بیش‌ترین میزان فنل کل در ارقام آوادیس و دیلا (۴۷/۹۰-۴۵/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و رقم یاسمین (۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) کمترین مقدار را داشت. همچنین از نظر مقدار فلاونوئید کل، ارقام گلنار و فرحناز به‌ترتیب با ۵۵/۶۲ و ۵۳/۰۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم دارای بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل بودند. تجزیه خوشه‌ای همه ارقام مورد مطالعه را به پنج گروه تقسیم‌بندی نمود. درصد اسانس در میان ارقام مختلف بین ۰/۴۱ تا ۰/۶۲ درصد متغیر بود و تنوع بالایی نیز از نظر میزان اسانس در ارقام مورد مطالعه مشاهده شد. همچنین در این مطالعه ارقام پریدخت، ثنا و اشرف از لحاظ شاخص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی مورد بررسی و ارقام فرحناز و المیرا^۲ از نظر میزان اسانس تولیدی برتر از سایر ارقام موجود ظاهر شدند. بنابراین می‌توان انتظار داشت تلاقی ارقام اشرف، ثنا و پریدخت با گروه پنجم بتواند ارقام موجود در این گروه را به لحاظ میزان ترکیبات زیستی، آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی ارتقا بخشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، داوودی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنل

مقدمه

گیاهان مختلفی وجود دارند. در ساختمان اسانس‌ها ترکیبات بسیار متنوعی مانند الکل‌های ترپنوئیدی، هیدروکربن‌ها، فنول‌ها، آلدئیدها، استرها و کتون‌ها به‌طور طبیعی وجود دارند و از نظر ترکیبات شیمیایی همگن نیستند (Marotti et al., 1993). گل داوودی (*Dendranthema morifolium*) به دلیل طعم و بوی مطبوع و آرامش بخش، رنگ‌های جذاب، و اهداف دارویی به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان غذا، چای، تزئینات و دارو استفاده می‌شود (Guzelmeric et al., 2015 و Wang et al., 2020). این گیاه متعلق به تیره Asteraceae، و یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی به شمار می‌رود (Da Silva, 2003). گزارش شده است که *C. morifolium* می‌تواند باعث کاهش بیش‌فعالی کبد (Cui et al.,

انواع متنوعی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی وجود دارد که منجر به ایجاد رنگ، طعم و بو در این گیاهان می‌شوند (Zeng et al., 2014). اسانس‌ها ترکیبات شیمیایی معطری هستند که در

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی تولید و پس از برداشت گیاهان باغبانی، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

*- نویسنده مسئول: (Email: Ehteshamnia.ab@lu.ac.ir)

۳- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
DOI:10.22067/JHS.2021.68860.1019

عصاره متانولی برگ و میزان اسانس گل داوودی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان از فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اکثر ارقام مورد بررسی بود (Hodaie et al., 2019). در مطالعه‌ای ترکیبات فرار گل‌های داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) مورد بررسی قرار رفت. در بررسی ایشان کریسانتینول استات (۴۳/۷۴ درصد) و وربنول (۲۷/۸۵ درصد) به‌عنوان ترکیبات غالب شناسایی شدند. نتایج این بررسی نشان داد گروه‌های اصلی عملکرد اسانس گل داوودی شامل استر و الکل می‌باشند (Chang and Kim, 2013).

با وجود اینکه داوودی یکی از گیاهان زینتی و دارویی پرمصرف بازار جهانی محسوب می‌شود، اما در سال‌های گذشته پژوهش‌های منسجم و کافی روی ارقام مختلف آن انجام نشده و عمده مطالعات به خصوصیات زینتی معطوف بوده است. بنابراین اطلاعات اندکی در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی، خواص آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های فیتوشیمیایی ارقام مختلف گل داوودی، به‌ویژه در ایران، در دسترس می‌باشد. در این مطالعه ارقام مورد مطالعه گل داوودی از لحاظ دارا بودن ترکیبات ثانویه و خواص دارویی مطلوب به‌منظور معرفی ارقام برتر و برنامه‌ریزی هدفمند برای پژوهش‌های به‌نژادی در زمینه دارویی و صنایع مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی

در این مطالعه ۲۵ رقم گل داوودی اصلاح‌شده به روش دورگه‌گیری در پژوهشکده تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات تهیه شدند (جدول ۱). قلمه‌های ریشه‌دار شده این گیاهان با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۴۰ سانتی‌متر، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه لرستان در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ کشت شدند. اوایل آبان ماه زمانی که ۵۰ درصد گلچه‌های لوله‌ای و ۷۰ درصد گلچه‌های زبانه‌ای ارقام مختلف گل داوودی باز شدند (Kulisc et al., 2004)، حدود ۲۵۰-۳۵۰ گل در ساعات اولیه صبح برداشت شدند.

استخراج اسانس گل

گل‌های برداشت شده در مرحله گلدهی کامل، به مدت یک هفته در سایه و در دمای اتاق، خشک گردیدند. سپس گل‌های خشک شده، خرد شدند و ۸۰ گرم آن با دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب، به مدت سه ساعت اسانس‌گیری شدند. اسانس خالص، تا زمان تزریق به دستگاه، در شیشه تیره و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش DPPH

قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH

(Wang et al., 2014)، تنظیم ایمنی سلولی و بهبود بینایی شود (Wang et al., 2020). اسانس گیاه داوودی از گل و برگ‌های آن به‌دست می‌آید و به‌عنوان طعم‌دهنده و چاشنی در صنعت و در تهیه نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاهان به دلیل وجود ترکیبات معطر در اسانس آنها معمولاً بسیار خوشبو هستند (Marotti et al., 1993). نوع و میزان ترکیبات شیمیایی اسانس گل داوودی بر حسب رقم و منشأ آن کاملاً متغییر است. همچنین وجود ترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های معطر مانند β -Pinene, Camphor, Borneol, Eucalyptol و Bornyl acetate در اسانس گل‌های این گیاه گزارش شده است (Sun et al., 2015).

مطالعات فعلی نشان داده است که فنلیک‌ها از جمله اسیدهای فنلیک و فلاونوئیدها از مواد فعال ضروری گل‌های داوودی هستند و اسیدهای فنلی اصلی از خانواده Caffeoylquinic acids (CQAs) است در حالی که فلاونوئیدها عمدتاً دارای مشتقات لوتولین، آپیزین، دیوسمین و کوئرستین هستند (Ma et al., 2020). اخیراً ثابت شده است که این فنولیک‌ها توانایی درمان یا تسکین سرطان، دیابت و سکتة مغزی را دارند و گل‌های داوودی را به مکمل‌های جذاب برای تولید غذاها و نوشیدنی‌های کاربردی تبدیل می‌کند (Ma et al., 2020). خواص زیستی فراوانی مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضدباکتری و ضد ویروس ایدز (HIV) برای گل داوودی شناسایی شده است (Wang et al., 2008). فلاونوئیدها در اندام‌های مختلف گیاهی یافت می‌شوند و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، نقش مهمی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و حفاظت سیستم‌های زیستی در برابر تنش‌های اکسیداتیو برخوردار هستند. امروزه ارقام بسیار متنوعی از گل داوودی در کشورهای مختلف و از طریق روش‌های مختلف به‌نژادی به‌خصوص دورگه‌گیری به‌دست آمده‌اند. آگاهی از تنوع ژنتیکی اولین گام در اصلاح گیاهان می‌باشد، بنابراین پتانسیل ارقام مورد نظر از جهات مختلف باید بررسی شود و سپس انتخاب صورت گیرد. از طرف دیگر، وجود تنوع ژنتیکی جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی دارای اهمیت زیادی می‌باشد (Teixira, 2004). گزارش‌های موجود به حضور ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی متفاوت در ارقام مختلف گل داوودی اشاره دارد. در مطالعه‌ای، فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی و وجود ترکیبات مختلف فلاونوئید در عصاره متانولی برگ و گل‌های داوودی گزارش شده است که از آسیب‌های مغزی مرتبط با کم‌خونی در موش جلوگیری می‌کند (Lin et al., 2010). در مطالعه‌ای دهو و همکاران (Duh et al., 2010) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چهار رقم گل داوودی، فعالیت قوی آنتی‌اکسیدانی هر چهار رقم را در مدل سیستم‌های اسید لینولئیک و لیپوزوم تایید کرده و رقم 'Harg Jur' دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را معرفی نمودند.

در مطالعه‌ای برخی ترکیبات زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. مقدار فنل کل با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسید گالیک، بر مبنای میلی‌گرم در گرم ماده خشک بیان گردید.

بررسی اثر ضد باکتریایی

اثر ضد باکتریایی عصاره آبی گل داوودی با روش انتشار در دیسک انجام شد و قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Mazandarani et al., 2007). قطر هاله عدم رشد کمتر از ۸ میلی‌متر به عنوان مقاوم، ۸ تا ۱۲ میلی‌متر به عنوان نسبتاً حساس و بیشتر از ۱۲ میلی‌متر به عنوان حساس در نظر گرفته شد از پلی‌اتیلن گلیکول ۱۰ درصد به عنوان شاهد منفی و از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. ابتدا از دو سویه باکتریایی سوسپانسیون میکروبی با کدورتی معادله لوله ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس با ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت یکنواختی از باکتری‌ها انجام شد. آنگاه دیسک‌های حاوی رقت‌های مختلف عصاره با فاصله معین از یکدیگر از لبه پلیت بر روی سطح یکنواخت آگار قرار داده شدند، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شده و نتایج اثر ضد باکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها ثبت شد (Mazandarani et al., 2007).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS.9.1 و آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام و رسم نمودار با نرم‌افزار اکسل صورت گرفت. تجزیه خوشه‌ای داده‌ها به روش Ward با استفاده از نرم‌افزار مینی تب انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که ارقام گل داوودی مورد مطالعه از نظر شاخص‌های فیتوشیمیایی نظیر فعالیت آنتی-اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل و میزان اسانس مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

محتوای فلاونوئید کل استخراج شده از گل‌های خشک‌شده در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی به رقم 'گلنار' (۵۵/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم 'دیلا' (۱۱/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) اختصاص داشت. دوه و همکاران (Duh et al., 1999) محتوای کل فلاونوئید عصاره آبی گونه *C. morifolium* در ارقام چینی را ۱۰/۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم گزارش نمودند.

بر اساس روش کولیسیک و همکاران (Slinkard et al., 1977) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی، در غلظت‌های مختلف (۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰) تهیه شد، سپس ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار به نمونه‌ها افزوده گردید. سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. یک نمونه حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد و ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH به‌عنوان کنترل استفاده شد. جهت بررسی فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH از شاخص IC₅₀ استفاده شد. IC₅₀ بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد. به‌منظور بررسی بهتر این فعالیت از آنتی‌اکسیدان سنتزی (ButylatedHydroxy Toluene) BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

$$RSA\% = 100 \left(1 - \frac{As - Ab}{Ac} \right)$$

در فرمول ۱، جذب نمونه تیمار (As)، جذب نمونه شاهد (Ac) و جذب نمونه بلنک (Ab) می‌باشد.

ارزیابی فلاونوئید کل: میزان فلاونوئید با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید، اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۱ گرم از برگ گیاه با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسیده و سپس عصاره حاصل روی شیکر با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه به مدت ۸ ساعت قرار گرفت. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل با ۴/۵ آب مقطر مخلوط شد. سپس به محصول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر نیتريت سدیم ۵ درصد و پس از پنج دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، اضافه شده و در نهایت ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار اضافه شد و شدت جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و با رسم منحنی استاندارد کوئرستین در غلظت‌های مختلف، میزان فلاونوئید کل نمونه‌ها محاسبه شد. در پایان میزان فلاونوئید عصاره‌ها به‌صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه محاسبه و گزارش شد (Hossain et al., 2011).

ارزیابی فنل کل برگ: مقدار فنل کل موجود در عصاره برگ‌های این گیاه به‌وسیله رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و به روش اسکلینکارد و سینگلتن (Slinkard et al., 1977) مورد بررسی قرار گرفت برای این منظور مقدار ۲/۵ گرم پودر برگ خشک شده گیاه به همراه ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. سپس عصاره حاصل سه مرتبه از کاغذ صافی عبور داده شد تا محلول شفاف به‌دست آید. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی رقیق شده با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتو رقیق شده و ۲ میلی‌لیتر از معرف کربنات سدیم ۷/۵ درصد به خوبی مخلوط و لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در حمام بن‌ماری ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه

جدول ۱- ارقام گل داوودی مورد بررسی در این مطالعه

Table 1- Assessed *Chrysanthemum* cultivars in this study

شماره Number	نام Name	شماره Number	نام Name
1	(تیهو) Tihoo	14	(گلنار) Golnar
2	(دیلا) Dila	15	(پریدخت) Paridokht
3	(شکرناز) Shekarnaz	16	(دریا ۲) Darya2
4	(ثنا) Sana	17	(مانی ۲) Mani2
5	(اوران) Oran	18	(نسترن) Nastaran
6	(تابان ۳) Taban3	19	(فرحناز) Farahnaz
7	(نادیا ۲) Nadia2	20	(اندیا) Andia
8	(نوروز ۳) Norouz3	21	(آوادیس) Avadis
9	(کیمیا ۳) Kimia3	22	(شهبین) Shahin
10	(افشان) Afshan	23	(المیرا ۲) Elmira2
11	(گل‌گیس) Golgis	24	(طناز) Tannaz
12	(نازگل) Nazgol	25	(یاسمین) Yasamin
13	(اشرف) Ashraf		

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در ارقام گل داوودی

Table 2- Analysis of variance for the phytochemical traits in different *Chrysanthemum* cultivars

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میزان اسانس Essential oil content	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (IC ₅₀)	فلاونوئید کل Total flavonoid	فنول کل Total phenol
تکرار Rep	2	0.009650**	5443.17**	498.86**	288.79**
رقم Cultivar	24	0.005776**	4.86 ^{ns}	0.752 ^{ns}	0.198 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	48	0.000176	9.09	2.208	3.15
کل Total	74	-	-	-	-
ضریب تغییرات CV (%)	-	0.412	2.365	1.586	22.389

^{ns}: غیرمعنی‌دار و **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

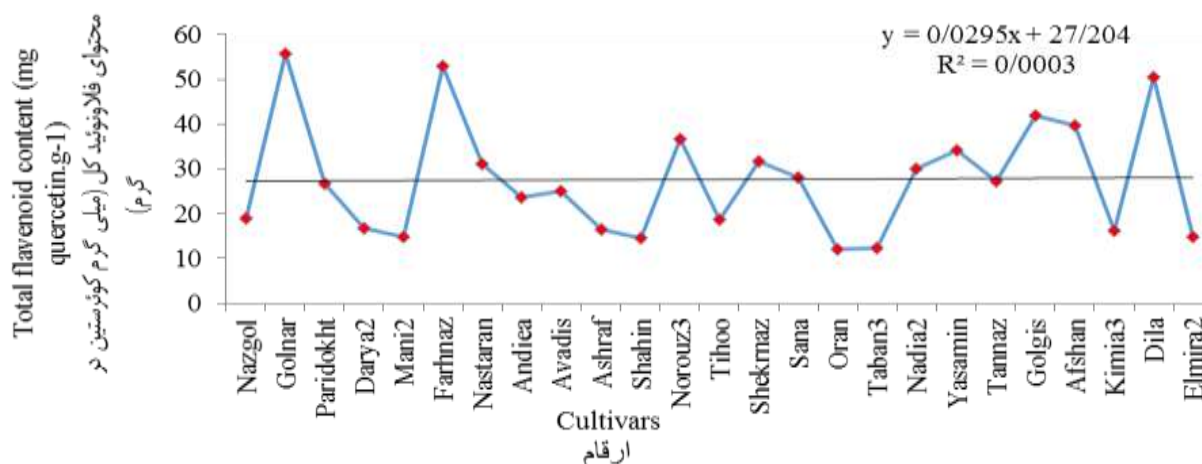
^{ns}: non-significant and **: significant at 1% of probability level

بر اساس نتایج به‌دست آمده، ارقام 'آوادیس' و 'دیلا' بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولیک (۴۷/۹۰ و ۴۵/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم 'یاسمین' (۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط بود. دوه و همکاران (Duh et al., 1999) میزان ترکیبات فنولیک عصاره آبی گونه *C. morifolium* در ارقام چینی را بین ۳۲/۳ تا ۵/۷ و میزان فنل کل برگ گونه *C. balsamita* در کشور بلغارستان بین ۹۶/۲۰ تا ۱/۰۷ بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم گزارش شده است (Alexieva et al., 2013). بر اساس گزارش هانگ و همکاران (Hung et al., 2012)

بر این اساس محتوای فلاونوئید عصاره متانولی این گونه در ارقام ایرانی بیش‌تر از این میزان در عصاره آبی ارقام چینی می‌باشند. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع ارقام مورد بررسی یا حلال‌های مختلف (آبی، متانولی) باشد. رنج‌های مختلفی از میزان فلاونوئید کل در گونه‌های مختلف داوودی در دیگر کشورها بر اساس کاربرد استانداردها و حلال‌های مختلف گزارش شده است. هدایی و همکاران (Hodaie et al., 2019)، با بررسی ارقام هیبرید داوودی‌های ایرانی گونه *C. morifolium* با عصاره متانولی، محتوای فلاونوئید کل را بین ۱۲/۶۲ و ۵۳/۱۷ گزارش نمودند.

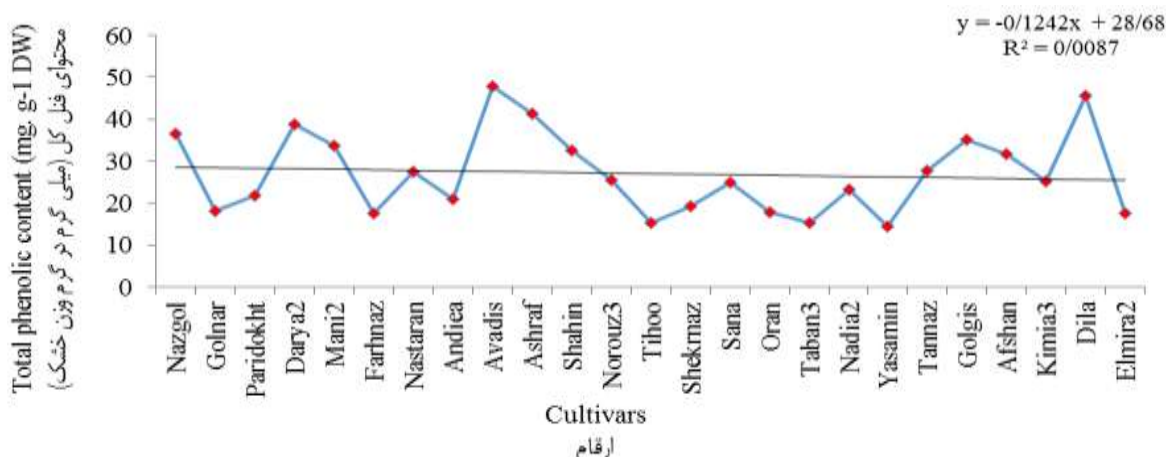
همکاران (Hodaie et al., 2019)، محتوای ترکیبات فنولیک بین ۱۷/۶۳ و ۳۳/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود.

نیز میزان فنل کل در گونه مورد مطالعه بیش‌تر از گونه *indicum* برآورده شده است (Dixon and Paiva, 1995). در مطالعه هدایی و



شکل ۱- محتوای فلاونوئید کل ارقام مختلف گل داوودی

Figure 1- Total Flavonoid contents in different *Chrysanthemum* cultivars



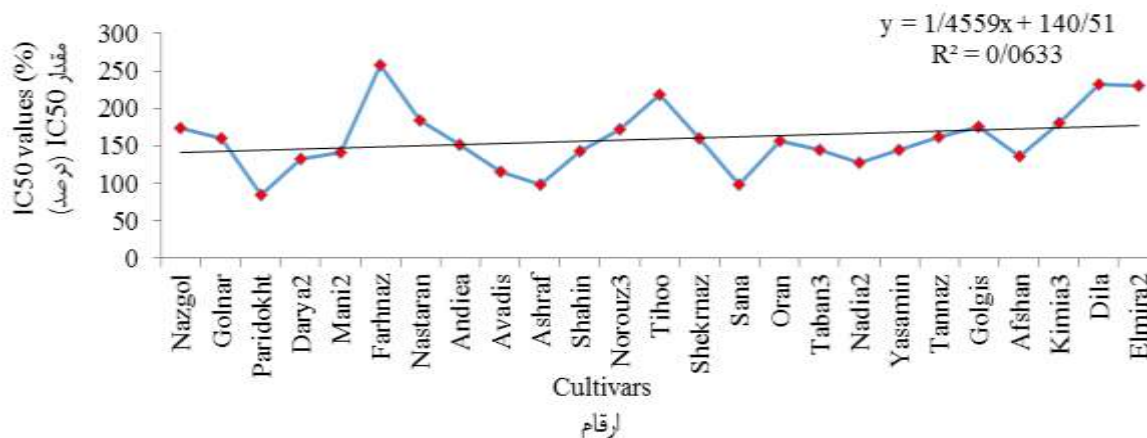
شکل ۲- محتوای فنل کل ارقام مختلف گل داوودی

Figure 2- Total Phenolic contents in different *Chrysanthemum* cultivars

مختلف در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقایسه را دشوار می‌سازد. دوه و همکاران (Duh et al., 1999) میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره آبی در ارقام داوودی چینی را ۷۱ تا ۹۵ درصد گزارش نمود. در حالی‌که زنگ و همکاران (Zeng et al., 2014) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کم‌تری (۱۱ درصد) را در عصاره اتانولی ارقام چینی مشاهده نمودند.

در مطالعه‌ای بر روی ۲۰ گیاه مختلف از خانواده Asteraceae بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش DPPH در برگ‌های این گونه‌ها (۱۵/۱۲ درصد) نسبت به گل (۸/۱۷ درصد) و ساقه (۹/۶۱ درصد) گزارش شد (Hwang et al., 2016).

شاخص IC_{50} اندازه‌گیری شده در ارقام مورد بررسی، طیف گسترده‌ای را از بیشینه ۲۵۷/۴۳۳ تا کمینه ۸۳/۹۲ میکروگرم/میلی‌لیتر، به‌ترتیب در ارقام 'فرحناز' و 'پریدخت' به خود اختصاص داد. بنابراین رقم 'پریدخت' و در رتبه‌های بعدی ارقام 'اشرف' و 'ثنا' بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر ارقام و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند (شکل ۳). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خود به‌عنوان ترکیبات دارویی مهم قابل توجه هستند. تنوع مشاهده شده در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام مورد مطالعه، علاوه بر این‌که بیانگر فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌های گیاه داوودی می‌باشد، تفاوت بالای ژنتیکی بین ارقام و تنوع در صفت مورد بررسی را نیز نشان می‌دهد. کاربرد انواع استاندارد و حلال‌های



شکل ۳- مقادیر IC_{50} اندازه‌گیری شده در ارقام گل داوودی
Figure 3- IC_{50} values evaluated in *Chrysanthemum* cultivars

تجزیه خوشه‌ای

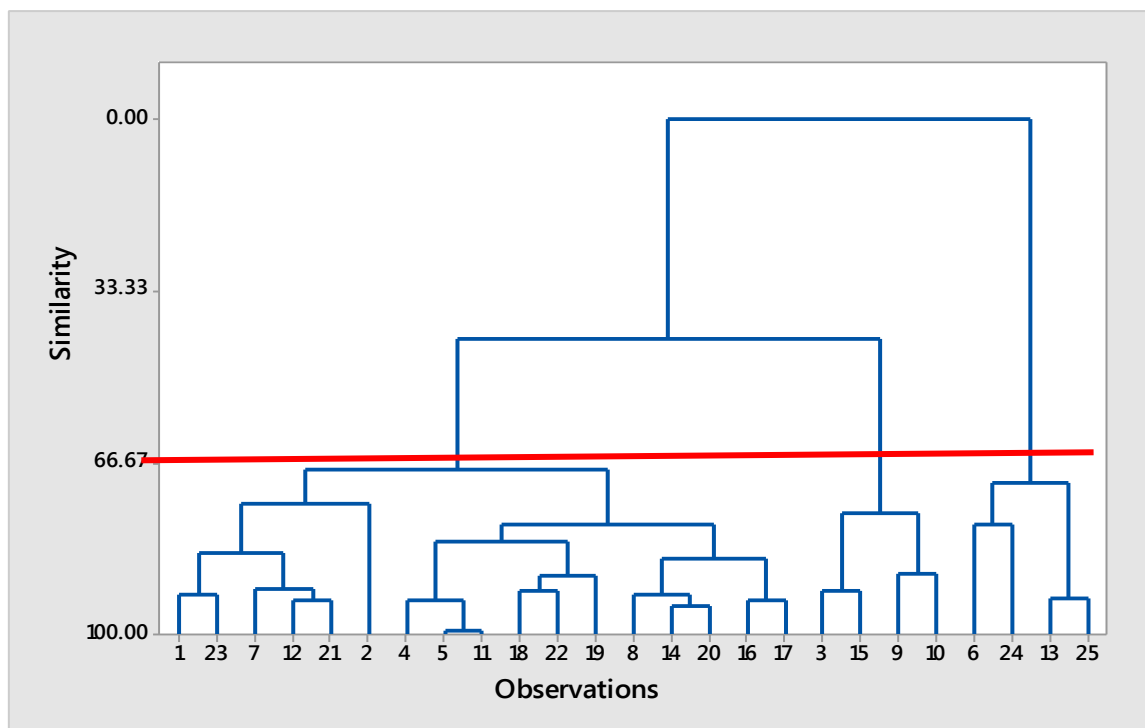
تجزیه خوشه‌ای برای تمام صفات اندازه‌گیری شده به روش حداقل واریانس Ward صورت گرفت. مناسب‌ترین نقطه برش دندروگرام همه ارقام داوودی مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم‌بندی نمود (شکل ۴). گروه اول شامل ارقام نازگل، گلنار، نسترن، نوروز ۳، گل‌گیس و کیمیا ۳ بود که به دو زیر گروه تقسیم شدند. زیر گروه اول ارقام نازگل، نسترن، نوروز ۳، گل‌گیس و کیمیا ۳ را شامل شدند که این ارقام با داشتن میزان متوسط و مشابهی از IC_{50} و میانگین درصد اسانس بین ۰/۴-۰/۵۳ در بین ارقام مورد مطالعه بودند. رقم گلنار به‌تنهایی در زیر گروه دوم گروه اصلی اول قرار گرفتند. این رقم دارای میزان فلاونوئید بالاتری نسبت به سایر ارقام این کلاستر برخوردار بود که آن‌ها را از زیر گروه اول، گروه اول متمایز می‌نمود. زیرخوشه دوم کلاستر اول، بیشترین میزان ارقام را شامل شد. این گروه دارای سطح مطلوبی از میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و درصد اسانس بودند. گروه اصلی دوم شامل ارقام فرحناز، تیهو، اوران و تابان ۳ بود. این ارقام از نظر همه صفات به غیر از میزان کل فنل که در آن‌ها تقریباً بالا بود، از میزان متوسط و مشابهی برخوردار بودند. گروه سوم نیز به دو زیرخوشه تقسیم شد، در زیرخوشه اول ارقام فرحناز و دیلا قرار گرفتند، دارای تشابه فراوانی از نظر قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و میزان کل فلاونوئید بودند و از سایر ارقام متمایز شدند (شکل ۴). دو رقم تیهو و المیرا ۲ با بالاترین میزان اسانس و شاخص IC_{50} در زیرخوشه دوم، گروه سوم قرار گرفتند. وجود تنوع در بین ارقام داوودی مورد مطالعه، گام بعدی انتخاب مواد گیاهی مناسب در بین گروه‌ها برای انجام برنامه‌های اصلاحی است. بر این اساس می‌توان انتظار داشت ارقام ثنا، پریدخت و اشرف که دارای کمترین

IC_{50} (بیشترین فعالیت آنتی‌رادیکالی) بتوانند از لحاظ صفات زیست-شیمیایی مورد بررسی برتر از ارقام موجود ظاهر شوند و همچنین تلاقی آن‌ها با ارقام گروه اول بتواند ارقام موجود در این گروه را به لحاظ میزان آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات زیستی ارتقا بخشد. در مطالعه هدایی و همکاران (Hodaie et al., 2019)، تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات زیست فعال ارقام ایرانی گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*)، مورد بررسی را به ۵ گروه اصلی تقسیم‌بندی نمودند.

برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که ترکیبات پلی‌فنولیک اندام‌های گیاه تحت تاثیر ژنوتیپ و عادت رشد می‌باشد (Orhan et al., 2007). اگر چه ارتفاع، نور، دما و میزان مواد غذایی قابل دسترس در خاک نیز می‌تواند متابولیسم فنیل پروپانوئید را تحت تاثیر قرار دهد (Dixon and Paiva, 1995). مرحله بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از فاکتورهای مهم تاثیرگذار روی میزان ترکیبات فنولیک می‌باشد. بیستریکا و همکاران (Bystricka et al., 2010)، نشان دادند که میزان و نوع ترکیبات فنولی در گیاهان دارویی به گونه، نوع اندام و مرحله رشد گیاه بستگی دارد. کلن و تپ (Kelen and Tepe, 2008) با تحقیق روی خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف مریم گلی بومی ترکیه نشان دادند که این گونه‌ها دارای ترکیبات ارزشمندی بوده و تفاوت‌های معنی‌داری از لحاظ صفات مورد مطالعه داشتند. تفاوت در محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سایر گونه‌ها (گونه میخک وحشی ایران) نیز گزارش شده است (Nisreen, 2015 و Dixon and Paiva, 1995). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارتباط مستقیمی بین خصوصیات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. خصوصیات فیتوشیمیایی (بخصوص فنول و

ایران نشان داد که اثرات آنتی‌اکسیدانی بالای گونه‌هایی از سالویا مانند *S. macilenta* و *S. hydrangea* به خاطر وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها می‌باشد.

فلاونوئید کل (ارقام 'پریدخت'، 'اُشرف' و 'ثنا' دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر ارقام داشتند. در مطالعه اسدی و همکاران (Asadi et al., 2010) روی شش گونه مریم‌گلی بومی



شکل ۴- تجزیه خوشه‌ای ارقام گل داوودی مورد مطالعه بر اساس صفات فیتوشیمیایی

Figure 4- Cluster analysis of *C. morifolium* cultivars studied based on phytochemical traits

ارقام گل داوودی: ۱- نازگل، ۲- گلنار، ۳- پریدخت، ۴- دریا، ۵- مانی، ۶- فرحناز، ۷- نسترن، ۸- آندیا، ۹- آوادیس، ۱۰- اشرف، ۱۱- شهین، ۱۲- نوروز، ۱۳- تیهو، ۱۴- شکرناز،

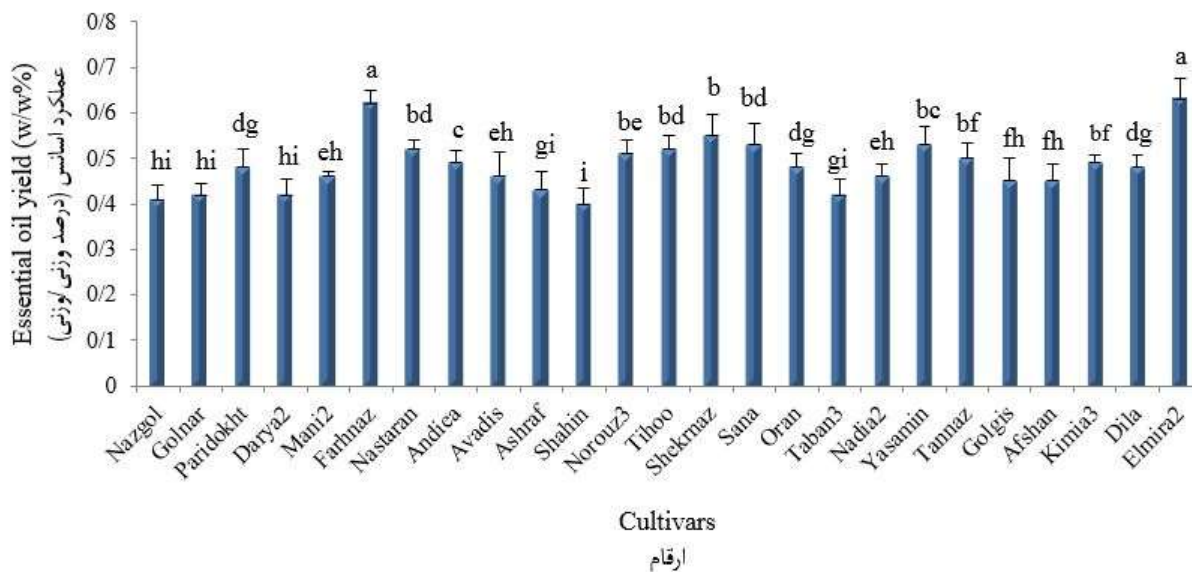
۱۵- ثنا، ۱۶- اوران، ۱۷- تابان، ۱۸- نادیا، ۱۹- یاسمین، ۲۰- طناز، ۲۱- گل‌گیس، ۲۲- افشان، ۲۳- کیمیا، ۲۴- دیلا، ۲۵- المیرا

C. morifolium cultivars: 1-Nazgl, 2- Golnar, 3-Paridokht, 4-Darya2, 5-Mani2, 6-Farhnaz, 7-Nastaran, 8-Andiea, 9-Avadis, 10-Ashraf, 11-Shahin, 12-Norouz3, 13-Tihoo, 14-Shekrnaz, 15-Sana, 16-Oran, 17-Taban3, 18-Nadia2, 19- Yasamin, 20- Tannaz, 21- Golgis, 22- Afshan, 23- Kimia3, 24- Dila, 25- Elmira2

درصد (وزنی/وزنی) گزارش شد.

در ارقام ایرانی مورد بررسی در این تحقیق علاوه بر وجود تنوع قابل توجه از نظر ترکیبات زیست فعال، آنتی‌اکسیدانی و میزان اسانس، درصد اسانس بیش‌تری نیز نسبت به ارقام چینی مشاهده شد. همچنین بر اساس مطالعات انجام شده، درصد اسانس گزارش شده برای سایر گونه‌ها مانند *C. fontanesi* (۰/۱ درصد) و *C. coronarium* (۰/۰۶) بسیار کمتر از این میزان در گونه *morifolium* بوده است (Lograda et al., 2013). در مطالعه حاضر، ارقام درنا ۲، ساحل و شکوه علاوه بر درصد اسانس بالا از عملکرد گل بالایی نیز برخوردار بودند که صرفه اقتصادی تولید اسانس در این ارقام را به مراتب افزایش می‌دهد.

اسانس در ارقام مختلف به رنگ‌های سبز، زرد و آبی و میزان آن در دامنه‌ای بین ۰/۴۱ تا ۰/۶۲ درصد (وزنی/وزنی) متغیر بود (شکل ۵). در این مطالعه، بیش‌ترین درصد اسانس به‌ترتیب در ارقام فرحناز و المیرا ۲ مشاهده شد. ارقام نازگل و گلنار و... نیز دارای کم‌ترین درصد اسانس بودند. با توجه به این‌که همه ارقام در یک محیط و در شرایط اقلیمی تقریباً یکسان کشت شده‌اند، عمده تفاوت در میزان اسانس را می‌تواند به ژنوتیپ گیاه نسبت داد. در بررسی هدایی و همکاران (Hodaie et al., 2019)، میزان اسانس گل داوودی ارقام ایرانی بین ۰/۰۷ تا ۰/۵۳ (وزنی/وزنی) متغیر بود. بر اساس تحقیقات انجام شده در ارقام داوودی چینی میزان اسانس بین ۰/۱ تا ۰/۲۶ درصد گزارش شد (Wang et al., 2008). در مطالعه چانگ و همکاران (Chang and Kim, 2013)، میزان اسانس در *C. morifolium* بین ۰/۱



شکل ۵- درصد اسانس (وزنی/وزنی) ارقام مختلف گل داوودی

Figure 5- Essential oil content (W/W%) of different *Chrysanthemum* cultivars

عبارت دیگر با افزایش غلظت عصاره میزان اثرگذاری آن بر روی رشد باکتری‌های مورد مطالعه به صورت قابل توجهی افزایش یافته و موجب افزایش قطر هاله عدم رشد و حساسیت این باکتری‌ها نسبت به عصاره شد (Bonjar, 2004).

بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد در هر روش انتشار دیسک مشخص کرد که عصاره آبی ارقام گل داوودی بر روی همه باکتری‌های منتخب اثر مهارکنندگی داشته و بیشترین اثر آن مربوط به دیسک غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره بوده است یا به

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره آبی گل داوودی به روش انتشار در دیسک برحسب میلی‌متر
Table 3- Mean diameter of non-growth halo in different concentrations of aqueous extract of chrysanthemum by disk diffusion method in millimeters

باکتری Bacteria	ارقام گل داوودی Chrysanthemum cultivars	غلظت Concentrations					
		12.5	25	50	100	250	500
Escherichia coli	Sana	-	7	9	11	13	15
		14	19	19	21	25	26
Staphylococcus aureus	Paridokht	-	8	10	11	12	14
		12	16	16	19	20	22
Escherichia coli	Ashraf	-	6	9	10	11	13
		-	10	11	14	17	22

داد که با افزایش غلظت عصاره حساسیت باکتری‌های منتخب نسبت به عصاره افزایش یافت. در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف صورت گرفته است، در این بررسی‌ها نشان داده شد بعضی از گیاهان تاثیراتی همانند داروهای شیمیایی یا به مراتب بیشتر از آن‌ها دارند (Ahvazi et al., 2012) و (Sadeghi, 2002). گل داوودی نیز یک گیاه دارویی سنتی است که در طب سنتی مصارف گوناگونی داشته و جهت درمان التهاب، بیماری‌های چشمی، سردرد، سرگیجه و سرماخوردگی و کاربرد دارد، ولی تاکنون گزارشی در خصوص اثرات ضد میکروبی آن در

در تحقیق حاضر توانایی عصاره آبی سه گونه گل داوودی که خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر ارقام داشتند، بر مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی اش‌ریشیاکلی عوامل ایجاد عفونت مجاری ادرار به روش انتشار در دیسک پرداخته شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی سه رقم (پریدخت، ثنا و اشرف) گل داوودی روی همه باکتری‌های منتخب اثر مهارکنندگی داشت (جدول ۳).

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت و منفی به این عصاره حساس بودند، نتایج مطالعه حاضر نشان

مختلف عصاره اتانولی برگ به‌لیمو موجب کاهش تعداد باکتری‌ها گردید به گونه‌ای که هر چه به غلظت عصاره در زمان‌های مختلف افزوده می‌شود، تعداد باکتری‌ها کاهش می‌یابد و این کاهش با افزایش زمان بیشتر می‌گردد (Agrios, 2005). طی تحقیقاتی اثر ضد میکروبی عصاره ۴۵ گونه گیاه بومی ایران علیه سویه از باکتری استفیلوکوکوس اورئوس (Bonjar, 2004) و ۱۱ گونه گیاه دارویی بر باسیلوس سرئوس (Hamdan et al., 2007) مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که با رقیق شدن عصاره‌ها از اثر ضد میکروبی آنها کاسته می‌شود که همسو با نتایج تحقیق حاضر بود.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در بین ارقام مختلف از نظر مقدار کل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی بوده که وجود چنین تنوعی می‌تواند نقش رقم و ژنتیک در تولید این ترکیبات باشد. بر اساس نتایج این مطالعه ارقام گل داوودی با دارا بودن سطح مطلوبی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان مصنوعی مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه ارقام 'پریدخت'، 'آشرف' و 'ننا' از نظر شاخص‌های فیتوشیمیایی و ضدباکتریایی مورد بررسی برتر از ارقام موجود ظاهر شدند. نتایج حاصل از این پژوهش را می‌توان در جهت انتخاب صحیح والدین برای انجام تلاقی‌های هدفمند در برنامه‌های اصلاحی دارویی و صنایع گل داوودی به‌منظور بهبود صفات فیتوشیمیایی ارقام موجود به کار برد.

ایران ارائه نشده است. همان طور که در قسمت نتایج مشخص گردید، عصاره آبی برگ این گیاه اثرات قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله استفیلوکوکوس اورئوس داشته و بر باکتری‌های گرم منفی این تاثیر ضعیف‌تر بوده است. تحقیقات نشان داده است که غلظت عصاره برشدت اثر ضد میکروبی آن مؤثر هست (Khosravi and Malecan, 2004). محمودی و همکاران (Mahmoudi et al., 2010) در بررسی اثر عصاره گیاهان نعنای، مریم‌گلی، زیره کاکوتی و زنیان به ترتیب با میزان بازدارندگی ۶/۳، ۶/۱۷، ۵/۷۷، ۴/۷۷ سانتی‌متر بالاترین میزان بازدارندگی و اسانس گیاهان بومادران، گشنیز، گلپر و عصاره مریم‌گلی کمترین اثر را نشان دادند. عصاره آبی چریش بیشترین میزان بازدارندگی و عصاره آبی آنگوزه و آویشن هیچ گونه تاثیری در رشد باکتری نداشتند. در بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر باکتری سودوموناس سرینگه اسانس آویشن، زنیان، زیره و نعنای، با بازداری ۳/۲۷، ۲/۲۲، ۲/۱۷، ۲ سانتی‌متر بیشترین اثر و کاکوتی، گشنیز و رزماری دارای اثر متوسط بوده و اسانس مریم‌گلی و آنگوزه تاثیری در جلوگیری از رشد باکتری نداشتند. طاهری عزیز آبادی و همکاران (Taheri Azizabadi et al., 2013) به‌منظور بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره برگ گیاه دارویی به‌لیمو، از عصاره‌های این گیاه در غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده نمودند آن‌ها دریافتند که غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برای باکتری سودوموناس سرینگه با میانگین قطر هاله ۱۰ میلی‌متر بیشترین اندازه هاله را به خود اختصاص داده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در پژوهش دیگری طبرسا و همکاران (Tabarsa et al., 2017) به بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره برگ به‌لیمو بر روی باکتری‌های اشریشیاکالای و استفیلوکوکوس اورئوس پرداختند. نتایج نشان داد که غلظت‌های

منابع

1. Agrios G.N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Academic press, San Francisco, California. Pp.922.
2. Ahvazi M., Khalighi-Sigaroodi F., Charkhchian M.M., Mojab F., Mozaffarian V-A., and Zakeri H. 2012. Introduction of medicinal plants species with the most traditional usage in Alamut region. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR 11(1): 185. (In Persian with English abstract)
3. Alexieva I., Mihaylova D., and Popova A. 2013. Evaluation of the antioxidant capacity of aqueous extracts of fresh *Chrysanthemum balsamita* L. leaves growing in Bulgaria. Научни трудове на русенския университет серия. 10: 88-91.
4. Asadi S., Ahmadiani A., Esmaili M.A., Sonboli A., Ansari N., and Khodaghali F. 2010. *In vitro* antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. Food and Chemical Toxicology 48: 341-1349.
5. Bonjar S. 2004. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. Journal of Ethnopharmacology 94(2-3): 301-5.
6. Bystricka J., Vollmannová A., Margitanová E., and Cicova I. 2010. Dynamics of polyphenolic formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agriculturae Slovenica 95: 225-229.
7. Chang K.M., and Kim G.H. 2013. Volatile aroma constituents of gukhwā (*Chrysanthemum morifolium* Ramt.). Food Science and Biotechnology 22(3): 659-663.
8. Cheng W., Li J., You T., and Hu C. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts

- from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linne. *Ethnopharmacol* 101(1-3): 334-7.
9. Cui Y., Wang X., Xue J., Liu J., and Xie M. 2014. *Chrysanthemum morifolium* extract attenuates high-fat milk-induced fatty liver through peroxisome proliferator-activated receptor alpha-mediated mechanism in mice. *Nutrition Research* 34(3): 268–275.
 10. Da silva J.A.T. 2003. Chrysanthemum: advances in tissue culture, cryopreservation, postharvest technology, genetics and transgenic biotechnology. *Biotechnology. Adv.* 21: 715-766.
 11. Dixon R.A., and Paiva N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097
 12. Duh P.D., Tu Y.Y., and Yen G.C. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harg Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Food Science and Technology* 32: 269-277.
 13. Guzelmeric E., Vovk I., and Yesilada E. 2015. Development and validation of an HPTLC method for apigenin 7-O-glucoside in chamomile flowers and its application for fingerprint Ethnopharmacology 101(1–3): 334–337.
 14. Hamdan M., Al-Ismail K., and Al-Delaimy K. 2007. The antibacterial activity of selected edible plant extracts against *Bacillus cereus*. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 3(2): 148-55.
 15. Hasanzadeh N. 2005. Technological implication of natural products in plant diseases management with special emphasis on fireblight, *Journal of agriculture sciences Islamic Azad University* 11(1): 53-67.
 16. Hodaei M., Rahimmalek M., and Arzani A. 2019. Evaluation of some bioactive compounds and antioxidant activity of leaf methanolic extract and flower essential oil content from different cultivars of *Chrysanthemum morifolium*. *Journal of Plant Production Research* 25(4): 133-143. (In Persian with English abstract)
 17. Hossain M.A., Shah M.D., Gnanaraj C., and Iqbal M. 2011. In vitro total phenolics, flavonoids contents and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts from the leaves of tropical medicinal plant *Tetrastigma* from Sabah. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4(9): 717–721.
 18. Hung C.Y., Tsai Y.C., and Li K.Y. 2012. Phenolic antioxidants isolated from the flowers of *Osmanthus fragrans*. *Molecules* 17: 10724-10737.
 19. Hwang S.H., Paek J.H., and Lim S.S. 2016. Simultaneous ultra-performance liquid chromatography determination and antioxidant activity of linarin, luteolin, chlorogenic acid and apigenin in different parts of Compositae species. *Molecules* 21: 1609.
 20. Kelen M., and Tepe B. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Biotechnology Journal* 99: 4096–4104.
 21. Khosravi A., and Malecan M. 2004. Effects of *lavandula stoechas* extracts on *staphylococcus aureus* and other gram negative bacteria.
 22. Kulisic T., Radinoc A., Katalinic V., and Milos M. 2004. Use of different method for testing antioxidative activity of orange essential oil. *Food Chemistry* 85: 633-640.
 23. Lin G.H., Lin L., Liang H.W., Ma X., Wang J.Y., Wu L.P., Jiang H.D., Bruce I.C., and Xia Q. 2010. Antioxidant action of a *Chrysanthemum morifolium* extract protects rat brain against ischemia and reperfusion injury. *Journal of Medicinal Food* 13: 306-311.
 24. Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figuered, G., Silin, H., and Kenoufi M. 2013. Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of Algerian populations of two *Chrysanthemum* species. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3: 6-11.
 25. Ma Y.L., Sun P., Feng J., Yuan J., Wang Y., Shang Y.F., and Wei Z.J. 2020. Solvent effect on phenolics and antioxidant activity of Huangshan Gongju (*Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvel. cv. Gongju) extract. *Food and Chemical Toxicology* 111875.
 26. Mahmoudi H, Rahnama K., and Arabkhani M. 2010. Antibacterial Effect Essential oil and Extracts of Medicinal Plant on the Causal Agents of Bacterial Canker and Leaf Spot on the Stone Fruit Tree. *Journal of Medicinal Plants* 9(36) :34-42
 27. Marotti M., Dellacecca V., Piccaglia R., and Glovanelli E. 1993. Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare*. *Acta Horticulturae* 331: 63-69.
 28. Mazandarani M., Yassaghi S., Rezaei M., and Ghaemi E. 2007. Ethnobotany and anti bacterial activity from essential oil of two endemic *Hypericum* species in North of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences* 6(2): 354-8.
 29. Nisreen H. 2015. Flavonoid in flower and leaf of *Chrysanthemum* as antioxidants and therapeutic agents. *Int. Hum. Res. J.* online at www.ihrij.org. ISSN 2347-7067.
 30. Orhan I., Zelik B., Kartal M., Zdeveci B., and Duman H. 2007. HPLC quantification of vitexine-2-Orhamnoside and hyperoside in three *Crataegus* species and their antimicrobial and antiviral activities. *Chromatographia* 66: 153-157.
 31. Saboora A., Dadmehr K.H., and Ranjbar M. 2013. Total phenolic and flavonoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 29: 281-295.
 32. Sadeghi G., Determination of Antibacterial Effect of *Glycyrrhiza Glabra* on *E. Coli*, *Salmonella Typhi*, *Shigella Flexneri* and *Shigella Sonnei*. Thesis No (1249): Islamic Azad Univer Pharmacol Scien; 2002-2003. p. 10-99. (Text in Persian)

33. Slinkard K., and Singleton V.L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
34. Sun H., Zhang T., Fan Q., Qi X., Zhang F., Fang W., Jiang J., Chen F., and Chen S. 2015. Identification of floral Scent in *Chrysanthemum* cultivars and wild relatives by Gas Chromatography- Mass Spectrometry. *Molecules* 20: 5346-5359.
35. Tabarsa H., Koohsari H., and Fadwa A. 2017. Antibacterial effect of lemon verbena leaf extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in traditional ice cream. *Journal of Food Research* 26(4): 737-747.
36. Taheri Azizabadi H., Bagheri N.A., Babaeian N.A., and Sharifi Mehr S. 2013. Investigation of antibacterial properties of lemon (*Lippia citriodora*) juice extract on some strains of gram-positive and negative bacteria, National Conference on Medicinal Plants, Tehran, Ayatollah Amoli Branch of Science and Research.
37. Teixeira D.S.J. 2004. Ornamental *Chrysanthemum*: improvement by biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 79: 1-18.
38. Wang Y., Li J., Xu Z., Li M., Wang K., Pang S., and Ni Y. 2020. The formation process of green substances in *Chrysanthemum morifolium* tea. *Food Chemistry* 326: 127028.
39. Wang T., Zhu Z., Guo Q., and Mao P. 2013. Variation in major flavonoids glycosides and caffeoylquinic acids during florescence of three *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. 'Hangju' genotypes. *Biochem. Systematic Ecology* 47: 74-79.
40. Wang Y.J., Yang X.W., and Guo Q.S. 2008. Studies on chemical constituents in Huangjuhua (flowers of *Chrysanthemum morifolium*). *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 33: 526-530.
41. Zeng Y., Deng M., Lv Z., and Peng Y. 2014. Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. *Springerplus* 3: 315.