



تأثیر عصاره سرشاخه و برگ زرشک (*Berberis vulgaris*)

بر میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum*

مریم رحیمی کاگلیکی^{۱*}، آرش امید^۲

۱- دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت خوراک دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

۲- استاد گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

* نویسنده مسئول: maryam.rahimi@shirazu.ac.ir



چکیده

استفاده از مواد طبیعی مانند برخی پسماندهای کشاورزی با پتانسیل قارچ‌کشی -به دلیل ارزان، در دسترس و نیز زیست تجزیه پذیر بودن- به منظور جلوگیری از خطرات زیست محیطی قارچ‌کش‌های شیمیایی، می‌تواند از راهکارهای مواجهه با قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی از جمله برخی گونه‌های توکسین‌زای فوزاریوم باشد. با توجه به فراوانی پسماندهای درختچه‌های زرشک در استان خراسان جنوبی، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سرشاخه و برگ درختچه زرشک (*Berberis vulgaris*) بر میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum* انجام گرفت. فعالیت ضدقارچی عصاره‌های مذکور با استفاده از روش میکروتیتر پلیت بررسی شد. عصاره متانولی نسبت به دیگر عصاره‌ها مؤثرتر بود. حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC) برای آن ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. رشد قارچ در نمونه‌های تیمار شده با عصاره متانولی وابسته به دز بود به گونه ای که با افزایش غلظت عصاره، سرعت رشد قارچ کاهش یافت. اثر ضد قارچی این عصاره را می‌توان به حضور ترکیبات فنولی و آلکالوئیدی از جمله بربرین مرتبط دانست. با توجه به نتایج پژوهش حاضر عصاره متانولی سرشاخه و برگ درختچه زرشک می‌تواند به عنوان یک عامل کنترل‌کننده زیست‌سازگار بالقوه، علیه قارچ فوزاریوم، مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پسماند کشاورزی، فعالیت ضدقارچی، فوزاریوم، مایکوتوکسین

مقدمه

برخی از گونه های فوزاریوم از جمله قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی هستند که غلاتی چون ذرت، گندم، جو، برنج، ارزن و یولاف را آلوده می‌کنند و بدلیل تولید توکسین هایی با قابلیت انتقال به محصولات دامی (شیر و گوشت)، جوامع انسانی را در معرض خطر قرار می‌دهند (جوانبخت‌اول و همکاران، ۱۳۹۷). تکنیک‌ها و استراتژی‌های متعددی سم‌زدایی مواد غذایی و خوراک‌های آلوده دامی ارائه شده است؛ با این حال، ازطرفی به دلیل وجود برخی محدودیت‌ها در اجرای این تکنیک‌ها و از طرف دیگر خطرات زیست محیطی قارچ‌کش‌های شیمیایی و هزینه‌های بالای سنتز و استفاده از آن‌ها، مطالعات اکثرا در جهت استفاده از مواد طبیعی به منظور تولید ترکیبات زیست سازگار با فعالیت ضدقارچ سوق یافته است. در میان مواد طبیعی قابل استفاده در این زمینه ضایعات و پسماندهای کشاورزی با پتانسیل قارچ‌کشی، به دلیل ارزان و در دسترس بودن و نیز زیست تجزیه پذیر بودن، کاندید مناسبی جهت جایگزینی سموم قارچ‌کش به نظر می‌رسند. بدلیل فراوانی پسماندهای درختچه‌های زرشک بدون دانه (*Berberis vulgaris*) در استان خراسان جنوبی و نیز با توجه به اثرات گیاه زرشک بر روی میکرواورگانسیم‌های مختلف از جمله ویروس‌ها (ویروس‌های نقص اکتسابی انسان)، باکتری‌ها (هلیکوباکتر پیلوری، استافیلوکوکوس اورئوس)، قارچ‌ها (کاندیدا آلبیکنز) و انگل‌ها (آنتاموبا هیستولایتیکا و ژیا ردیا لامبیله) (سپهری‌منش و همکاران، ۱۳۹۱) به نظر می‌رسد برگ و سرشاخه این گیاه نیز بتواند اثرات ضدمیکروبی داشته باشد. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر عصاره سرشاخه و برگ درختچه زرشک (*Berberis vulgaris*) بر میزان مهار رشد قارچ *Fusarium oxysporum* بوده است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره برگ و سرشاخه زرشک (*Berberis vulgaris*): مقدار ۲۰ گرم از پودر برگ و سرشاخه زرشک، به ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال (آب، اتانول و متانول ۸۰ درصد) اضافه، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰°C در آون شیکر دار با شدت شیک ۱۵۰ دور در دقیقه، قرار داده شد. عصاره‌های صاف شده تغلیظ و در نهایت توسط فریزدرایر خشک و پودر حاصل تا زمان استفاده در فریزر ۲۰°C- نگهداری شد.

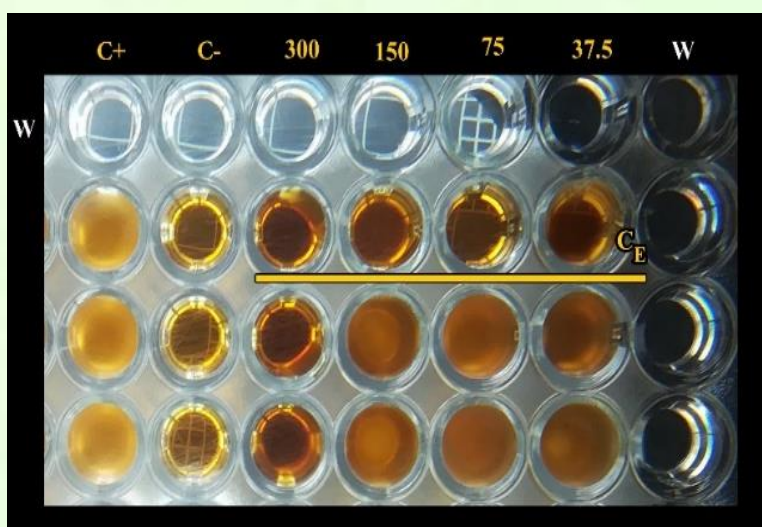
تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ: سوسپانسیون اسپور قارچ *Fusarium oxysporum* (۵۱۱۵-PTCC)، تهیه شده از مرکز کلکسیون میکروارگانسیم‌های صنعتی ایران، با استفاده از پلیت‌های گرمخانه‌گذاری شده در محیط عمومی قارچ PDA به مدت پنج تا هفت روز در دمای ۲۵°C تهیه گردید. تعداد اسپورها به کمک لام نئوبار شمارش و غلظت نهایی روی ۲×۱۰^۶ spores/ml تنظیم شد.

بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره برگ و سرشاخه زرشک (*Berberis vulgaris*): تعیین کمترین غلظت مهار کننده (MIC) و کمترین غلظت کشنده قارچ (MFC)

بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی و شناسایی مؤثرترین عصاره، به روش میکروتیتر پلیت انجام گرفت. بدین منظور غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۶۰ میلی‌گرم در پنج میلی‌لیتر و غلظت های سریالی از ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، بعد از فیلتر شدن توسط میکروفیلتر ۰/۲۲ میکرون آماده شد.

نتایج و بحث

نتایج: از بین عصاره ها و غلظت های مورد استفاده، عصاره متانولی، در غلظت ۳۰۰mg/ml به مدت ۱۰ روز به خوبی توانست در محیط SDB به طور کامل مانع از رشد قارچ *Foxysporum* شود. رشد قارچ در نمونه‌های تحت تیمار با عصاره متانولی، وابسته به دز بود و با افزایش غلظت عصاره میزان رشد قارچ کاهش یافت. دو عصاره دیگر در غلظت های مورد استفاده اثر بازدارندگی نشان ندادند.



تصویر ۱- کشت هفت روزه اسپور قارچ *Fusarium oxysporum* با غلظت ۲×۱۰^۶ spores/mL در محیط SDB در دمای ۲۵°C در حضور غلظت‌های سریالی عصاره متانولی برگ و سرشاخه زرشک (غلظت ۳۰۰ تا ۳۷/۵ mg/ml) در دو تکرار؛ ردیف اول و ستون آخر (W): آب مقطر استریل، ستون (C+) کنترل مثبت حاوی محیط کشت و اسپور قارچ؛ ستون (C-) کنترل منفی، حاوی محیط کشت فاقد اسپور، ردیف دوم: کنترل عصاره در هر غلظت (محیط کشت و عصاره).

در آزمون تعیین MFC پس از گذشت هفت روز، در غلظت ۳۰۰mg/ml عصاره متانولی برگ و سرشاخه زرشک، رشد قارچ مشاهده نشد؛ لذا غلظت مذکور به عنوان MFC در نظر گرفته شد. در مقایسه محیط‌های کشت، محیط SDB نسبت به محیط PDB رشد بهتری را نشان داد، لذا انجام آزمون‌ها با محیط SDB منجر به صرفه جویی در زمان خوانش میکروپلیت و افزایش دقت در مشاهدات شد. تفاوت معنی داری بین محیط کشت PDA و SDA از نظر سرعت رشد قارچ مشاهده نشد.

بحث: مطالعات بر روی خواص داروشناختی زرشک اثرات ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدانگلی آلکالوئیدهای آن را اثبات کرده است (نظری و حسینی‌هاشمی، ۱۳۹۵). بر اساس بررسی‌های فیتوشیمیایی، این گیاه حاوی بیش از ۳۰ آلکالوئید و بالغ بر ده ترکیب فنولی و چندین تری‌ترپنوئید است. بیشتر خواص دارویی این گیاه به آلکالوئیدهای متنوعی که در اندام‌های مختلف گیاه (میوه، ریشه، برگ، شاخه و ساقه) (Mokhber-Dezfuli et al., 2014) و همچنین در پوست درونی آن (نظری و حسینی‌هاشمی، ۱۳۹۵) در غلظت‌های متفاوت حضور دارند نسبت داده شده است. بربرین مهم‌ترین آلکالوئید زرشک (صدرایی و همکاران، ۱۳۹۳) فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی قابل توجهی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و گونه‌های مختلف *Candida spp.* نشان داده است (Freile et al., 2003). گرچه بربرین مهم‌ترین آلکالوئیدی است که به طور کلی ادعا می‌شود مسؤول اثرات مفید گیاه زرشک است و مطالعات زیادی نیز تاکنون در این خصوص انجام شده است با این وجود مشخص شده است که آلکالوئیدهای دیگر نیز در اثرات گیاه نقش دارند (Yeşilada and Küpeli, 2002). با توجه به اثرات قابل توجه بربرین در جلوگیری از رشد مخمرها و دیگر میکرواورگانسیم‌ها می‌توان تا حدودی اثر مهاري مشاهده شده بر قارچ *Fusarium oxysporum* را به آن مرتبط دانست، با این حال نمی‌توان نقش دیگر ترکیبات آلکالوئیدی و فنولی را در این اثر نادیده گرفت. شناسایی دیگر عوامل مؤثر احتمالی عصاره متانولی برگ و سرشاخه در مهار رشد قارچ فوزاریوم نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد.

منابع

- جوانبخت اول، ن. م.، مرادزاده اسکندری، ح.، افضل‌ی، م.، اخوت (۱۳۹۷). ردیابی گونه‌های فوزاریوم مولد مایکوتوکسین با استفاده از صفات ریخت شناسی و مولکولی در دانه ذرت. پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی ۱۷(۱): ۱-۱۶.
- سپهری منش، م: پورباقی، ل: رجاییان، ح: دادرس، ح: رازقیان جهرمی، ا. ۱۳۹۱. بررسی اثرات افزودن ریشه زرشک (*Berberis vulgaris*) به جیره طیور گوشتی نژاد *ArborAcers* به عنوان محرک رشد. فصلنامه گیاهان دارویی، سال یازدهم، دوره دوم، شماره ۹: ۱۳۶-۱۳۰.
- صدرایی، س: آذرnia، م: فتح آبادی، ز: غلامرضا، ک: رئوف سرشوری، ج. ۱۳۹۳. بررسی اثر عصاره‌های زرشک (*Berberis integririma*) بر رشد بافت استخوانی جنین موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/c. زیست شناسی تکوینی ۷: ۳۹-۴۸.
- نظری، ل. و س. حسینی‌هاشمی (۱۳۹۵). اثرات هم‌افزایی ضد قارچی آفت‌کش‌های آلی و عصاره حاصل از پوست درونی ساقه زرشک (*Berberis vulgaris*) بر روی قارچ مولد پوسیدگی سفید. تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده ۷(۴): ۲۹-۴۴.
- Freile ML, Giannini F, Pucci G, Sturniolo A, Rodero L, Pucci O, Balzareti V, Enriz RD. Antimicrobial activity of aqueous extracts and of berberine isolated from *Berberis heterophylla*. Fitoterapia. 2003 Dec 1;74(7-8):702-5.
- Mokhber-Dezfuli, N., S. Saeidnia, A. R. Gohari and M. Kurepaz-Mahmoodabadi (2014). "Phytochemistry and pharmacology of berberis species." Pharmacognosy reviews 8(15): 8.
- Yeşilada, E., & Küpeli, E. (2002). *Berberis crataegina* DC. root exhibits potent anti-inflammatory, analgesic and febrifuge effects in mice and rats. Journal of ethnopharmacology, 79(2), 237-248.