تأثیر عصاره سرشاخه و برگ زرشک (*Berberis vulgaris*) بر میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum*

مریم رحیمی کاکلکی[1*]، آرش امیدی[2]
۱- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت خوراک دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- استاد گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
*نویسنده مسئول: maryam.rahimi@shirazu.ac.ir

چکیده

برخی گونه‌های فوزاریوم، قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی هستند که علاوه بر ایجاد بیماری در گیاهان و غلات، منجر به تولید توکسین‌هایی باقابلیت انتقال به محصولات دامی (شیر و گوشت) می‌شوند. لذا یافتن روش‌هایی که بتوانند رشد قارچ و تولید مایکوتوکسین‌ها را مهار کنند، ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از مواد طبیعی برای اجتناب از خطرات زیست‌محیطی قارچ‌کش‌های شیمیایی، ازجمله راهکارهایی است که در دهه‌های اخیر توجه محققین را به خود معطوف کرده است. برخی پسماندهای کشاورزی با پتانسیل قارچ‌کشی، به دلیل ارزان و در دسترس بودن و نیز زیست تجزیه‌پذیر بودن، به نظر می‌رسد کاندید مناسبی جهت جایگزینی با سموم قارچ‌کش باشند. به دلیل فراوانی پسماندهای درختچه‌های زرشک در استان خراسان جنوبی، مطالعه حاضر باهدف بررسی تأثیرات عصاره سرشاخه و برگ درختچه زرشک (*Berberis vulgaris*) بر میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum* انجام گرفت. فعالیت ضد قارچی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سرشاخه‌ها و برگ گیاه بر میزان رشد قارچ فوزاریوم با استفاده از روش میکرو تیتر پلیت بررسی شد. عصاره متانولی نسبت به دیگر عصاره‌ها مؤثرتر بود و حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC) برای آن ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. رشد قارچ *Fusarium oxysporum* بر روی نمونه‌های تیمار شده با عصاره متانولی وابسته به دز بود. با افزایش غلظت عصاره، سرعت رشد قارچ کاهش یافت. اثر ضد قارچی این عصاره را می‌توان به حضور ترکیبات فنولی و آلکالوئیدی ازجمله برترین مرتبط دانست. با توجه به نتایج پژوهش حاضر عصاره متانولی سرشاخه و برگ درختچه زرشک می‌تواند به‌عنوان یک عامل کنترل‌کننده زیست سازگار بالقوه، علیه قارچ فوزاریوم، مورداستفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پسماند کشاورزی، فعالیت ضد قارچی، فوزاریوم، مایکوتوکسین

مقدمه

برخی از گونه‌های فوزاریوم ازجمله قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی هستند که غلاتی چون ذرت، گندم، جو، برنج، ارزن و یولاف را آلوده می‌کنند و به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه سمی باقابلیت 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 ارائه‌شده است؛ بااین‌حال، از طرفی به دلیل وجود برخی محدودیت‌ها در اجرای این تکنیک‌ها و از طرف دیگر خطرات زیست‌محیطی قارچ‌کش‌های شیمیایی و هزینه‌های بالای سنتز و استفاده از آن‌ها، مطالعات به سمت استفاده از مواد طبیعی به‌منظور تولید ترکیبات زیست سازگار با فعالیت ضد قارچ سوق یافته است. در میان مواد طبیعی قابل‌استفاده در این زمینه ضایعات و پسماندهای کشاورزی با پتانسیل قارچ‌کشی، به دلیل ارزان و در دسترس بودن و نیز زیست تجزیه‌پذیر بودن، کاندید مناسبی جهت جایگزینی سموم قارچ‌کش به نظر می‌رسند. گیاه زرشک (*Berberis vulgaris*) ازجمله گیاهان دارویی است که بخش‌های مختلف آن از قبیل میوه ریشه، پوست ساقه و برگ آن در طب سنتی ایران و دیگر کشورهای آسیایی و غربی کاربردی دیرینه دارد. از پوست ساقه و ریشه زرشک به‌عنوان ملین، مدر، تب‌بر، ضد صفرا و ضدعفونی‌کننده استفاده می‌شود. همچنین از جوشانده برگ‌ها به‌عنوان ضد اسکوربوت، ضدتورم در سیستم قلب و عروق، کاهنده علائم سرماخوردگی سیستم تنفسی و آب‌رسانی به زخم‌ها و جراحات (Imanshahidi & Hosseinzadeh, 2008) استفاده می‌شود. به دلیل فراوانی پسماندهای درختچه‌های زرشک بدون دانه (*Berberis vulgaris*) در استان خراسان جنوبی و نیز با

توجه به اثرات گیاه زرشک بر روی میکروب‌شناسی‌های مختلف ازجمله ویروس‌ها (ویروس‌های نقص اکتسابی انسان)، باکتری‌ها (هلیکوباکتر پیلوری، استافیلوکوکوس اورئوس)، قارچ‌ها (کاندیدا آلبیکنز) و انگل‌ها (آنتاموبا هیستولایتیکا و ژیاردیا لامبیله) (سپهری‌منش و همکاران، ۱۳۹۱) به نظر می‌رسد برگ و سرشاخه این گیاه نیز بتواند اثرات ضد میکروبی 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

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

برگ و سرشاخه زرشک جمع‌آوری‌شده بعد از شست‌وشو، طی ۹۶ ساعت در دمای محیط در محلی دور از نور خورشید خشک و توسط آسیاب به پودر تبدیل شد. به‌منظور تهیه عصاره‌های هیدروالکلی مقدار ۲۰ گرم از پودر حاصل، به ۲۰۰ میلی‌لیتر الکل (اتانول و متانول ۸۰ درصد) و به‌منظور تهیه عصاره آبی، مقدار ۲۰ گرم از پودر به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در آون شیکر دار در دمای ۵۰ °C و شدت شیک ۱۵۰ دور در دقیقه، قرار داده شد. مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک، صاف شد. عصاره‌های هیدروالکلی توسط دستگاه تبخیر روتاری[1] تغلیظ و سپس توسط فریزدرایر خشک شدند. عصاره آبی نیز بعد از تغلیظ در آون با دمای ۵۰ °C در ادامه توسط فریزدرایر خشک شد و درنهایت پودر حاصل از خشک شدن عصاره‌ها تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- °C نگهداری شد.

تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ

سوسپانسیون اسپور قارچ *Fusarium oxysporum* (PTCC-۵۱۱۵)، تهیه‌شده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران، با اســتفاده از پلیت‌های گرمخانه گذاری شــده در محیط عمومی قارچ PDA[2] (Quelab کانادا) به مدت ۵ تا ۷ روز در دمای ۲۵ °C تهیه گردید. تعداد اسپورها به کمک لام نئوبار شمارش و غلظت نهایی روی spores/ml ۲×۱۰^{۶} تنظیم شد.

بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره برگ و سرشاخه زرشک (*Berberis vulgaris*)

تعیین کمترین غلظت مهارکننده (MIC[3])، کمترین غلظت کشنده قارچ (MFC[4]) و تفکیک اثر قارچ ایستایی از اثر قارچ‌کشی

بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی برگ و سرشاخه زرشک (*Berberis vulgaris*) و شناسایی مؤثرترین عصاره، به روش میکروتیتر پلیت انجام گرفت. بدین منظور غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۶۰ میلی‌گرم در ۵ میلی‌لیتر برای عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی و غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای عصاره اتانولی)، توسط آب مقطر استریل تهیه و بعد از فیلتر شدن توسط میکروفیلتر ۰/۲۲ میکرون (شرکت Jet Biofil) آماده شد. سپس در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت عصاره به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط PDB[5] اضافه و مخلوط شد. ازآنجاکه غلظت‌های مختلف عصاره توسط آب مقطر تهیه شدند به‌منظور حفظ غلظت محیط کشت، از محیط کشت با غلظت دو برابر استفاده شد. در انتها به هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور *F.oxysporum* (spores/mL ۲×۱۰^{۶}) افزوده شد. همچنین دو ردیف چاهک انتهایی با افزودن ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت PDB (Laboratorios CONDA اسپانیا) و SDB[6] (Merck آلمان)، حاوی ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور قارچ به‌عنوان کنترل مثبت (و نیز به‌منظور مقایسه دو محیط کشت) در نظر گرفته شد. یک ردیف چاهک حاوی محیط کشت فاقد اسپور نیز به‌عنوان کنترل منفی (کنترل محیط کشت PDB) در نظر گرفته

[1] Rotary evaporator
[2] Potato Dextrose Agar
[3] Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
[4] Minimum Fungicidal Concentration (MFC)
[5] Potato Dextrose Broth
[6] Sabroud Dextrose Broth

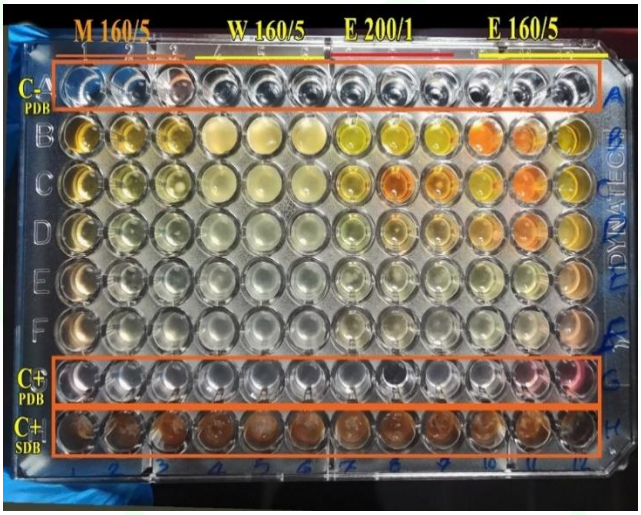
شد. همچنین یک ردیف از چاهک‌ها به کنترل هر یک از غلظت‌های عصاره‌ها اختصاص داده شد (حاوی عصاره و محیط کشت). پس از انکوباسیون ۹۶ ساعته در دمای ^{o}C ۲۵، چاهک‌ها ازنظر رشد قارچ بررسی شدند؛ عدم رشد پرگنه‌های قارچ در چاهک‌ها نشان‌دهنده تأثیر مثبت مهارکنندگی عصاره در نظر گرفته شد. کمترین غلظت عصاره که مانع رشد قارچ شد به‌عنوان MIC مشخص گردید. میزان رشد میسلیوم ها در دو محیط کشت PDB و SDB نیز با یکدیگر مقایسه شد. سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

به‌منظور تعیین MFC و تفکیک اثر قارچ ایستایی عصاره از اثر قارچ‌کشی، پس از اتمام انکوباسیون ۹۶ ساعته میکروپلیت مرحله قبل، مقدار ۲۰ میکرولیتر از چاهک‌های فاقد پرگنه قارچ و مقدار ۲۰ میکرولیتر از چاهک کنترل مثبت (حاوی محیط کشت و اسپور قارچ)، به پلیت‌های حاوی محیط کشت عمومی PDA یا SDA انتقال داده شد. کمترین غلظت از عصاره که پس از هفت‌تا ده روز، رشد قارچ در آن مشاهده نشد به‌عنوان MFC عصاره در نظر گرفته شد. آزمون فوق با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد.

نتایج

بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره برگ و سرشاخه زرشک (*Berberis vulgaris*)

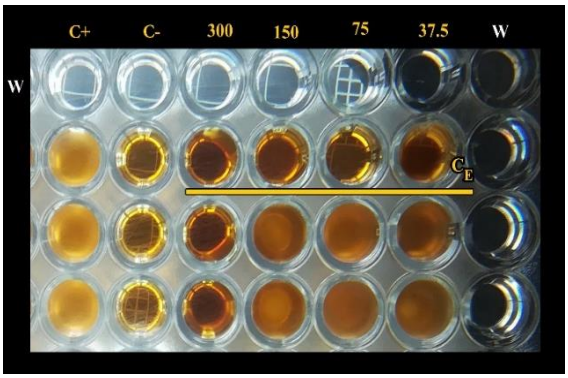
حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره برگ و سرشاخه زرشک (*Berberis vulgaris*) در غلظت‌های ۱۶۰ mg در ۵ ml برای عصاره‌های آبی و اتانولی و متانولی و غلظت ۲۰۰mg/ml برای عصاره اتانولی در محیط PDB تلقیح شده با اسپور قارچ *F.oxysporum* پس از نگهداری در دمای ^{o}C ۲۵ به مدت هفت روز بررسی شد. در غلظت‌های به‌کاررفته اثر بازدارندگی در رشد قارچ، مشاهده نشد (تصویر ۱) بااین‌وجود عصاره متانولی (۱۶۰ mg در ۵ ml) علیرغم اینکه کاملاً مانع رشد قارچ نشد اما مهار مؤثرتری نسبت به دیگر عصاره‌ها نشان داد.



تصویر ۱- کشت هفت‌روزه اسپور قارچ *F.oxysporum* با غلظت spores/mL ۲×۱۰^{۶} در دمای ۲۵°C در حضور غلظت‌های عصاره متانولی (۱۶۰ mg در ۵ ml ستون‌های ۱ تا ۳)، آبی (۱۶۰ mg در ۵ ml ستون‌های ٤ تا ٦) و اتانولی (۲۰۰mg در یک میلی‌لیتر ستون‌های ۷ تا ۹ و ۱۶۰ mg در ۵ ml ستون‌های ۱۰ تا ۱۲) برگ و سرشاخه زرشک. عصاره متانولی (۱۶۰ mg در ۵ ml ستون‌های ۱ تا ۳) کاملاً مانع رشد نشد بااین‌حال مهار مؤثرتری نسبت به دیگر عصاره‌ها نشان داد. ردیفC+ PDB: کنترل مثبت محیط PDB و ردیفC+SDB: کنترل مثبت در محیط SDB؛ رشد قارچ در محیط SDB بهتر بود.

در مقایسه محیط‌های کشت، محیط SDB نسبت به محیط PDB رشد بهتری را نشان داد، لذا به‌منظور صرفه‌جویی در زمان خوانش میکروپلیت و افزایش دقت در مشاهدات، ادامه آزمون‌ها با محیط SDB انجام شد. در آزمونی مشابه، به‌منظور تعیین MIC عصاره متانولی، تست فوق با مقادیر غلظت‌های سریالی عصاره از ۳۰۰ تا ۳۷,۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر انجام شد. نتایج در تصویر ۲ قابل‌مشاهده است. بر اساس نتایج مشاهده‌شده، غلظت ۳۰۰ mg/ml به مدت ۱۰ روز (مدت‌زمان نگهداری پلیت تا قبل از خشک شدن محتویات چاهک‌ها) به‌خوبی توانست در محیط SDB به‌طور کامل مانع از رشد قارچ *F.oxysporum* شود. رشد قارچ در نمونه‌های تحت تیمار با عصاره وابسته به دز بود و با افزایش غلظت عصاره میزان رشد قارچ کاهش یافت. عصاره متانولی در غلظت mg/ml

۲۰۰، عصـاره آبی در غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و عصـاره اتانولی در غلظت mg/ml ۳۰۰ اثر مهاری قابل‌توجهی نشـان ندادند.



تصویر ۲- کشت هفت‌روزه اسپور قارچ Fusarium oxysporum با غلظت 2×10^{6} 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 به همراه ده میکرولیتر اسپور قارچ؛ ستون :(C-)کنترل منفی، حاوی محیط کشت فاقد اسپور، ردیف دوم :(CE)کنترل عصاره در هر غلظت.

در پلیت های حاوی عصـاره، طی آزمون MFC، پس از گذشـت هفت روز، رشـد قارچ مشـاهده نشـد؛ لذا غلظت mg/ml ۳۰۰ به‌عنوان MFC عصاره متانولی برگ و سر شاخه زرشک در نظر گرفته شد و مشخص گردید عصاره متانولی مذکور در این غلظت خاصیت قارچ‌کشی دارد.

بحث

از بین انواع مایکوتوکسین‌های شناسایی‌شده، سموم فوزاریوم (زیرالنون[۱]، فومونیزین[۲]، دئوکسی نیوالنول[۳] و T-2/HT-2) به دلیل قابلیت انتقال به محصولات دامی، نگرانی‌های جدی را در مورد سلامت عمومی، ایجاد کرده‌اند (Molina, Chavarría et al. 2019). مطالعات بر روی خواص دارو شناختی زرشک (*Berberis vulgaris*) اثرات ضدمیکروبی، ضد قارچی و ضدانگلی آلکالوییدهای آن را اثبات کرده است (نظری و حسینی‌هاشمی، ۱۳۹۵). بر اساس بررسی‌های فیتوشیمیایی، این گیاه حاوی بیش از ۳۰ آلکالوئید و بالغبر ده ترکیب فنولی و چندین تری‌ترپنوئید است. بیشتر خواص دارویی این گیاه به آلکالوئیدهای آن‌که در اندام‌های مختلف گیاه حضور دارند نسبت داده‌شده است (صدرایی و همکاران، ۱۳۹۳). آلکالوئیدهای مختلفی ازجمله بربرین[۴]، اکسی کانتین[۵]، بربامین[۶]، بربرامین[۷]، بربروبین[۸]، اوکسی بربرین[۹]، پالماتین[۱۰]، کولومبامین[۱۱]، ایزوکوریدین[۱۲]، لامبرتین[۱۳]، مگنیفلورین[۱۴] و ترکیبات دیگر در اندام‌های مختلف گیاه (میوه، ریشه، برگ، شاخه و ساقه) (Mokhber-Dezfuli, Saeidnia et al. 2014) و همچنین در پوست درونی آن (نظری و حسینی‌هاشمی، ۱۳۹۵) در غلظت‌های متفاوت حضور دارند. برخی از ترکیبات شیمیایی موجود در ساختار برگ عبارت‌اند از Acanthine، Ascorbic acid، Delphinidin-3-o-beta-d-glucoside، Glucan, alpha، Hyperoside، Polysaccharide، Quercitrin، Thalicmidine،

[1] Zearalenone
[2] Fumonisin
[3] Deoxynivalenol
[4] Berberine
[5] oxycanthine
[6] Berbamine
[7] berberamine
[8] Berberubine
[9] oxyberberine
[10] Palmatine
[11] Columbamine
[12] isocorydine
[13] lambertine
[14] magniflorine

Tocopherol,alpha، Vitamin K، Vulvracine و Xylan,beta و شاخه‌ها نیز حاوی Berberine و Acanthine گزارش‌شده‌اند . (NAPALERT[1])

مهم‌ترین آلکالوئید زرشک بربرین شناخته‌شده است (صدرایی و همکاران، ۱۳۹۳). بربرین فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل‌توجهی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و گونه‌های مختلف *Candida* spp. نشان داده است (MIC = 64 µ g/mL برای *Candida albicans*) (Freile et al., 2003). این آلکالوئید با فرمول شیمیایی $C_{20}H_{19}NO_5$ ، یک کاتیون آلی بوده که از غشاء سلول به‌آسانی عبور کرده و با مولکول DNA تشکیل کمپلکس می‌دهد. این کمپلکس باعث تغییرات در ساختمانDNA می‌شود و کارکرد تنظیمی ژن‌ها را تغییر داده و درنهایت در مسیر تمایز تغییراتی ایجاد می‌کند. از دیگر عملکردهای بربرین مهار عمل آنزیم توپوایزومراز I و II است. این دو آنزیم روی مارپیچ DNA اثر گذاشته و در قطع و وصل پیوندهای فسفودی‌استر شرکت می‌کنند. نبود این آنزیم‌ها از سنتز DNA جلوگیری می‌کند و کاهش یا مهار کامل این آنزیم‌ها باعث ایجاد تغییرات توپولوژیکی (آرایش شبکه) در DNA می‌شود؛ بنابراین تشکیل کمپلکس بربرین و یا مشتقاتش با DNA می‌تواند باعث کند شدن رونویسی گردد و بر سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک تأثیر گذاشته و تولید پروتئین و RNA را در سلول‌ها مهار کند (صدرایی و همکاران، ۱۳۹۳).

گرچه بربرین مهم‌ترین آلکالوئیدی است که به‌طورکلی ادعا می‌شود مسئول اثرات مفید گیاه زرشک است و مطالعات زیادی نیز تاکنون در این خصوص انجام‌شده است بااین‌وجود مشخص‌شده است که آلکالوئیدهای دیگر نیز در اثرات گیاه نقش دارند (Yeşilada and Küpeli, 2002). چندین مطالعه نشان داده است که گیاهان از تیره *Berberis* (*B. repens*، *B. aquifolium* و*B. fremontii*) تولیدکننده بربرین، همچنین دو ماده، فلاونولیگنان-′۵ متوکسی هایدنوکارپین[2] و پورفیرین فئوفوربید[3] Aرا سنتز می‌کنند که فعالیت ضد باکتریایی ندارند اما در برابر پمپ‌های خروجی مقاوم در برابر چند دارو (پمپ‌های MDR[4]) که تاکنون در ساختار *S. aureus* یافت شده است خاصیت بازدارندگی دارند. MDRپمپ‌ها مواد ضدمیکروبی طبیعی و مصنوعی را از سلول‌های باکتریایی خارج می‌کنند. به‌عنوان‌مثال، طی پژوهشی حضور ترکیب فئوفوربید در*B. aetnensis* تأیید شد که با مهار پمپ MDR فعالیت سیپروفلوکساسین را بهبود می‌بخشد (Imanshahidi & Hosseinzadeh, 2008). با توجه به اثرات قابل‌توجه بربرین در جلوگیری از رشد مخمرها و دیگر میکرواورگانیسم‌ها می‌توان تا حدودی اثر مهاری مشاهده شده بر قارچ *Fusarium oxysporum* را به آن مرتبط دانست، بااین‌حال 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 و م. اخوت (۱۳۹۷). ردیابی گونه‌های فوزاریوم مولد مایکوتوکسین با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و مولکولی در دانه ذرت. پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۷(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 Arbor Acers به‌عنوان محرک رشد. فصلنامه گیاهان دارویی، سال یازدهم، دوره دوم، شماره ۹: ۱۳۶-۱۳۰.

صدرایی، س؛ آذرنیا، م؛ فتح آبادی، ز؛ غلامرضا، ک؛ رئوف سرشوری، ج. ۱۳۹۳. بررسی اثر عصاره آبی زرشک (*Berberis integerrima*) بر رشد بافت استخوانی جنین موش کوچک آزمایشگاهی‌نژاد Balb/c. زیست‌شناسی تکوینی ۷: ۳۹-۴۸.

[1] Natural Products Alert Database
[2] flavonolignan 5′-methoxyhydnocarpin
[3] porphyrin pheophorbide A
[4] Multidrug resistance (MDR)

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 تجدیدشونده 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.

Imanshahidi, M., & Hosseinzadeh, H. (2008). Pharmacological and therapeutic effects of Berberis vulgaris and its active constituent, berberine. *Phytotherapy research*, *22*(8), 999-1012.

Mokhber-Dezfuli, N., S. Saeidnia, A. R. Gohari and M. Kurepaz-Mahmoodabadi (2014). "Phytochemistry and pharmacology of berberis species." Pharmacognosy reviews 8(15): 8.

Molina, A., Chavarría, G., Alfaro-Cascante, M., Leiva, A., & Granados-Chinchilla, F. (2019). Mycotoxins at the start of the food chain in Costa Rica: analysis of six Fusarium toxins and ochratoxin A between 2013 and 2017 in animal feed and aflatoxin M1 in dairy products. Toxins, 11(6), 312.

Mokhber-Dezfuli N, Saeidnia S, Gohari AR, Kurepaz-Mahmoodabadi M (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.

Effect of extract of barberry branch and leaf *(Berberis vulgaris)* on the growth rate of *Fusarium oxysporum*

Rahimi Kakolaki, M[1*]; Omidi, A[2]
1- PhD student of Feed Hygiene, Department of Animal Health Management, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
2- Professor, Department of Animal Health Management, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
* *Corresponding Author: maryam.rahimi@shirazu.ac.ir*

Abstract

Some species of *Fusarium* are plant-pathogenic fungi causing diseases in plants and grains and produce toxins capable of being transported to animal products (milk and meat). Finding suitable routs that can inhibit fungal growth and production of mycotoxins is necessary. Use of natural materials to avoid the environmental hazards of chemical fungicides is one of the solutions that has attracted the attention of many researchers in recent decades. Due to cheapness and availability of some agricultural wastes with antifungal potential and also their biodegradability, it seems to be good candidate for replacement of fungicides. Due to the abundance of barberry shrub residues in South Khorasan province, the present study was conducted to investigate the effects of barberry branch and leaf extract against the growth of *Fusarium oxysporum*. The antifungal activity of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of barberry branch and leaf on the growth rate of *Fusarium oxysporum* was investigated using microwell dilution method. Methanolic extract was more effective than the other extracts and the minimum inhibitory concentration (MIC) of this extract was determined as 300 mg/ml and minimum fungicidal concentration (MFC) was also determined 300 mg/ml. The growth of *Fusarium oxysporum* on the methanolic extract treated samples had a dose dependent manner. The fungal growth rate decreased with increasing the extract concentration. The antifungal activity of the extract can be attributed to the alkaloid and phenolic compounds present in barberry such as berberine. Therefore, according to the results of the present study, the methanolic extract of barberry branch and leaf (*Berberis vulgaris)* may be usable as natural bio-controlling agent against *Fusarium oxysporum*.

Keywords: agricultural waste, antifungal activity, *Fusarium*, mycotoxin