مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثر مهارکنندگی، کشندگی و برهمکنش عصاره آبی استبرق بر *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* در شرایط برون‌تنی

آرمین احمدنژاد[۱]، بهروز علیزاده بهبهانی*[۲]، محمد حجتی[۳]، علیرضا وسیعی[۴]، محمدامین مهرنیا[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۳- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۴- دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۲۰

کلمات کلیدی:

استبرق،

اثر ضدقارچی،

نیستاتین،

قطرهاله عدم رشد..

DOI: 10.22034/FSCT.20.143. 204

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.143.15.7

* مسئول مکاتبات:

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

چکیده

کالوتروپیس پروسرا از خانواده Apocynaceae در ایران استبرق نامیده می شود. این گیاه در مناطق گرمسیری و سواحل جنوبی ایران و شمال آفریقا، آسیای خاورمیانه و آسیای جنوب شرقی روی تپه های ماسه ای ساحلی یافت می شود. در این پژوهش آزمایشگاهی، عصاره استبرق با استفاده از حلال آب استخراج شد. اثر ضد قارچی عصاره آبی استبرق بر سویه‌های *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* بررسی شد. فعالیت ضد قارچی عصاره استبرق با روش‌های دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر)، انتشار در چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی ارزیابی شد. در حالت ترکیبی (برهمکنش) عصاره آبی استبرق با آنتی بیوتیک نیستاتین مورد بررسی قرار گرفت. بطور کلی، *ساکارومایسس سرویزیه* و *آلترناریا سولانی* به ترتیب با بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد، حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به عصاره آبی استبرق بودند. بطوریکه قطر هاله عدم رشد برای *ساکارومایسس سرویزیه* و *آلترناریا سولانی* در حضور غلظت ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره به ترتیب برابر با ۱۳/۲۰ و ۸/۲۰ میلی‌متر بود. در حالت ترکیبی (برهمکنش) عصاره آبی استبرق با آنتی‌بیوتیک نیستاتین برای تمامی سویه‌های قارچی حالت هم‌افزایی مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای سویه *ساکارومایسس سرویزیه* به ترتیب ۱۶ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای *آلترناریا سولانی* به ترتیب ۱۲۸ و > ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

۱- مقدمه

گسترش روز افزون بیماری‌های ناشی از میکروارگانیسم‌ها از سویی و مقاومت‌های آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی از سویی دیگر سبب بروز مشکلات عمده‌ای در سیستم درمانی جوامع مختلف، علی الخصوص کشورهای در حال توسعه شده است. از این رو پژوهشگران سرتاسر دنیا به دنبال یافتن منابع جدید دارویی با اثر بخشی مناسب و تا حد امکان کم‌ترین اثر جانبی بر سلامت انسان‌ها می‌باشند. گسترش عفونت‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و همچنین عدم یا کاهش کارایی آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی در سالیان اخیر باعث شده است تا بخش زیادی از پژوهش‌های صورت گرفته توسط محققین در خصوص یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید به منظور بررسی فعالیت ضدقارچی و ضدباکتریایی گیاهان دارویی به تنهایی یا توام با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی معطوف شود نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که ترکیبات گیاهان دارویی هم به صورت مستقیم (تنها) تاثیر دارند و هم می‌توانند باعث افزایش عملکرد داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها جهت کاهش دوز مصرفی و همچنین اثر مضر آن‌ها گردد [۱-۷].

استبرق با نام علمی *Calotropis procera* متعلق به خانواده Asclepiadaceae از جمله گیاهان دارویی است که با توجه به تنوع آب و هوایی کشور ایران به صورت خودرو در استان‌های خوزستان، بوشهر، هرمزگان، سیستان بلوچستان و ... یافت می‌شود. این گیاه دارویی در مناطق مختلفی دارای اسامی مختلفی همانند غلبلب و خرک می‌باشد. از نظر گیاه‌شناسی، استبرق درختچه‌ای است که دارای ارتفاع ۳ تا ۴ متر بوده و برگ‌های آن به طول ۱۵ سانتی‌متر و عرض ۱۱ سانتی‌متر می‌باشد. این گیاه در سایر نقاط جهان همانند غرب آسیا، آفریقا، جنوب آمریکا و مناطق گرم و مرطوب نیز یافت می‌شود. از نظر شیمیایی برگ‌ها و شاخه‌های جوان گیاه استبرق دارای ترکیباتی نظیر کالوتروپین و کالوتروپاژنین هستند. تاکنون پژوهش‌های اندکی در زمینه اثر این گیاه بر فعالیت ضدمیکروبی آن انجام شده است. در طب سنتی از گیاه استبرق برای درمان زخم، صرع و مشکلات طحال استفاده می‌شود. در کشور هندوستان از گیاه استبرق به طور سنتی برای درمان بیماری‌هایی نظیر زخم معده، تومور و جذام استفاده می‌شود [۸-۱۱].

علی رغم این که فعالیت مطلوب برخی گیاهان دارویی در عفونت‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا طی بررسی‌های مختلف به اثبات رسیده است، اما پژوهش‌های اندکی در زمینه برهمکنش میان آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی با گیاهان دارویی چه در شرایط برون‌تنی و چه در شرایط درون‌تنی انجام شده است. بنابراین بررسی برهمکنش‌های دارویی شامل هم‌افزایی (سینرژیسم) و ضدیت اثر(آنتاگونیسم) از جمله موارد مهم در حوزه علوم دارویی بوده و همین امر باعث شده است تا درمان مکمل شامل استفاده همزمان از ترکیبات گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی از جمله راه کارهای نوین درمانی در زمینه درمان بیماری‌های ناشی از عفونت‌های میکروبی می‌باشد [۱۲-۱۴].

هدف از این پژوهش تجربی، ارزیابی فعالیت ضدقارچی عصاره آبی استبرق بر *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* در شرایط برون‌تنی بود، همچنین برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک نیستاتین نیز بررسی شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه گیاه استبرق و عصاره گیری

این پژوهش آزمایشگاهی در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع

غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد.

پس از جمع‌آوری برگ‌های استبرق از شهرستان گتوند (استان خوزستان) تایید اسم علمی گیاه توسط گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد (کد هرباریوم: KHAU ۳۱۹). برگ‌های جمع آوری شده پس از تمیز شدن، زدودن آلودگی و شست‌وشوی سطحی با آب سرد، در دمای اتاق روی توری فلزی مشبک به مدت ۳ روز خشک گردید. برگ‌های خشک شده توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر شد. پودر برگ استبرق به دست آمده جهت یکنواختی اندازه ذرات از الک عبور داده شد. عمل عصاره‌گیری از برگ استبرق مطابق با روش سورشجانی و همکاران (۲۰۱۳)، انجام گردید. ۱۰۰ گرم از برگ پودر شده با ۱۵۰۰ گرم آب مقطر مخلوط شده و در ارلن ۲ لیتری روی شیکر به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از ۴۸ ساعت مخلوط آب و برگ از پارچه توری تمیز عبور داده شده و تفاله برگ‌ها به خوبی جدا شدند. عصاره به دست آمده از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و جهت عمل شفاف‌سازی به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. عصاره آبی در ظروف شیشه‌ای ریخته شد و در آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. جهت حذف هرگونه آلودگی میکروبی پودر به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در زیر نور UV استریل شد. عصاره آبی به دست آمده از گیاه استبرق تا انجام آزمون‌های ضدقارچی در ظرف تیره که اطراف آن با فویل آلومینیوم پوشیده شده بود در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد [۱۵].

۲-۲- ارزیابی فعالیت ضدقارچی عصاره استبرق

از ۴ روش ضدمیکروبی برای ارزیابی فعالیت ضدقارچی عصاره آبی استبرق بر *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* استفاده شد. روش‌های انجام شده شامل: دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر)، انتشار در آگار به کمک چاه (چاهک آگار) حداقل غلظت مهارکنندگی (ماکرودایلوشن براث) و حداقل غلظت کشندگی بود. در زیر روش‌های ضدقارچی به صورت مختصر توضیح داده شده است.

۱-۲-۲- دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر)

در روش دیسک دیفیوژن آگار از دیسک‌های کاغذی بلانک استریل به قطر ۵ میلی‌متر استفاده شد. در این روش ابتدا غلظت‌های مختلف از عصاره آبی استبرق (۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه گردید. دیسک‌های بلانک استریل در غلظت‌های مذکور به مدت ۳۰ دقیقه خیسانده شدند. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سویه‌های قارچی استاندارد روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار به صورت چمنی کشت داده شد. دیسک‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره آبی استبرق با استفاده از پنس استریل به آرامی روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. یک عدد دیسک بلانک که فاقد عصاره بود نیز به عنوان نمونه کنترل در وسط ظرف میکروبی قرار داده شد. به منظور عمل پیش انتشار ظروف میکروبی کشت داده شده به مدت یک ساعت در دمای یخچال قرار گرفتند. پس از یک ساعت ظروف میکروبی در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. پس از طی این مدت زمان قطر هاله عدم رشد میکروبی با استفاده از خط-کش اندازه‌گیری شد و بر حسب میلی‌متر داده‌ها ثبت گردید [۱۶].

۲-۲-۲- چاهک آگار

جهت انجام آزمون چاهک آگار ابتدا در محیط کشت سابرووز دکستروز آگار به کمک انتهای پی‌پت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر حفر گردید. انتهای چاهک‌های ایجاد شده توسط یک قطره آگار مذاب بسته شد. شایان ذکر است در سطح هر پتری دیش تعداد ۵ عدد چاهک (۴ عدد مربوط به غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی استبرق و ۱ عدد برای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

کنترل) ایجاد شد. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سویه‌های قارچی استاندارد روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار به صورت چمنی کشت داده شد. پتری دیش‌های میکروبی به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک‌ها به کمک خط‌کش به طور دقیق اندازه‌گیری شده و بر حسب میلی‌متر گزارش گردید [۱۷].

۳-۲-۲- حداقل غلظت مهارکنندگی

برای ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی استبرق از ۱۲ عدد لوله آزمایشگاهی استریل شده مطابق شکل ۱، استفاده شد. در این روش ابتدا غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۵/۱۲ گرم عصاره با ۹/۵ از محیط کشت سابروز دکستروز براث و ۰/۵ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید مخلوط شد) تهیه شد. غلظت‌های بعدی که شامل ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴، ۲ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود با استفاده از رقت‌سازی در مایع آماده شد. ۲ لوله آزمایشگاهی نیز به عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از سویه‌های قارچی استاندارد درون هر یک از غلظت‌های تهیه شده تلقیح شد. پس از انجام عمل تلقیح لوله‌های کشت داده شده در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. پس از طی این مدت زمان لوله‌ها با مقایسه با لوله‌های کنترل و به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. اولین لوله‌ای که در آن کدورتی مشاهده نشد (سویه قارچی رشد نکرده باشد) به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد [۱۸].

Figure 1- The minimum inhibitory concentration of the aqueous extract of *Calotropis procera*.

۴-۲-۲- حداقل غلظت کشندگی

تعیین حداقل غلظت کشندگی مطابق با روش رحمتی جنیدآباد و علیزاده بهبهانی و همکاران (۱۴۰۰)، انجام شد. در این روش از لوله حداقل غلظت مهارکنندگی به طرف غلظت‌های بالاتر به میزان ۱۰۰ میکرولیتر روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت سطحی انجام شد. پس از آن پتری دیش‌های کشت داده شده در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. اولین پتری‌دیشی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید [۱۹].

۳-۲- بررسی برهمکنش عصاره آبی استبرق با آنتی بیوتیک نیستاتین

جهت بررسی برهمکنش آنتی‌بیوتیک نیستاتین با عصاره آبی استبرق از روش سوسنی غریبوند و همکاران (۱۳۹۹)، استفاده شد. در این روش به طور خلاصه برای ارزیابی برهم‌کنش (هم‌افزایی یا کاهندگی) عصاره آبی برگ استبرق در ترکیب با آنتی‌بیوتیک نیستاتین از غلظت تحت مهاری استفاده شد. در این پژوهش از غلظت تحت مهاری که ۱/۲ غلظت، حداقل غلظت مهارکنندگی بود استفاده گردید [۲۰].

۴-۲- آنالیز آماری

آزمون‌های این پژوهش در ۳ تکرار انجام و نتایج بصورت "انحراف معیار ± میانگین" گزارش شدند. از آنالیز واریانس

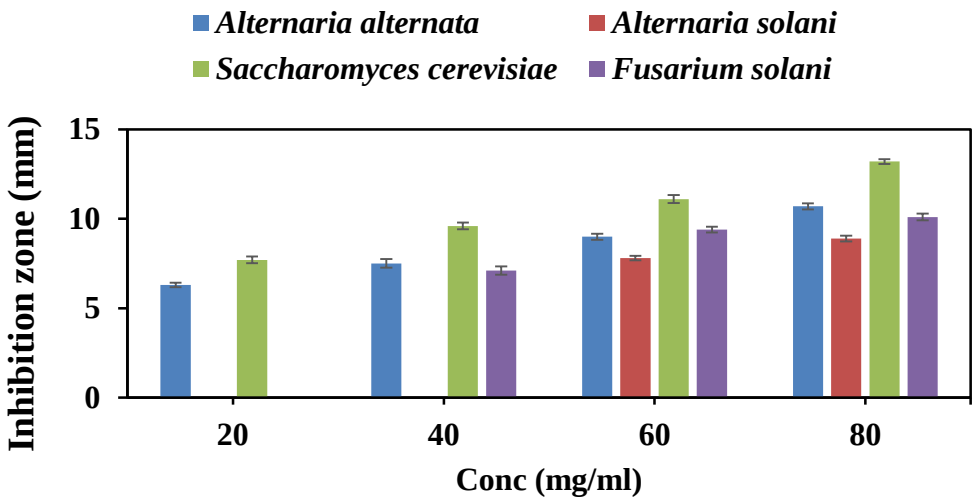
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن ($p < ۰/۰۵$) برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

به دلیل مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و همچنین تمایل مصرف کنندگان تمایل امروزه بشر استفاده از ترکیبات طبیعی برای درمان بیماری‌ها می‌باشد. در پژوهش حاضر، فعالیت ضد قارچی عصاره آبی استبرق در برابر قارچ‌های *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* بررسی شد. نتایج اثر ضد قارچی عصاره آبی استبرق با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۲، نشان داده شده است.

مطابق نتایج، اثر ضدقارچی عصاره آبی استبرق وابسته به غلظت و نوع قارچ مورد بررسی داشت. با افزایش غلظت عصاره آبی استبرق افزایش قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های قارچی مشاهده شد. نتایج نشان داد که در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره آبی استبرق، اثر ضدقارچی برای *آلترناریا سولانی* و *فوزاریوم سولانی* مشاهده نشد، اما قطر هاله عدم رشد برای *آلترناریا آلترناتا* و *ساکارومایسس سرویزیه* به ترتیب برابر با ۶/۳۰ و ۷/۷۰ میلی‌متر بود. در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای تمامی سویه‌های قارچی به غیر از *آلترناریا سولانی* هاله عدم رشد مشاهده شد. در غلظت‌های ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره آبی استبرق منجر به جلوگیری از رشد تمامی گونه‌های قارچی گردید. بطور کلی، *ساکارومایسس سرویزیه* و *آلترناریا سولانی* به ترتیب با بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد، حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به عصاره آبی استبرق بودند ($p<0.05$). بطوریکه قطر هاله عدم رشد برای *ساکارومایسس سرویزیه* و *آلترناریا سولانی* در حضور غلظت ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره به ترتیب برابر با ۱۳/۲۰ و ۸/۲۰ میلی‌متر بود. در شکل ۳، نمایی از اثر ضدقارچی عصاره استبرق بر قارچ *فوزاریوم سولانی* به روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داده شده است.



[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

Figure 2. Antifungal activity of *Calotropis procera* extract based on disc diffusion agar method.

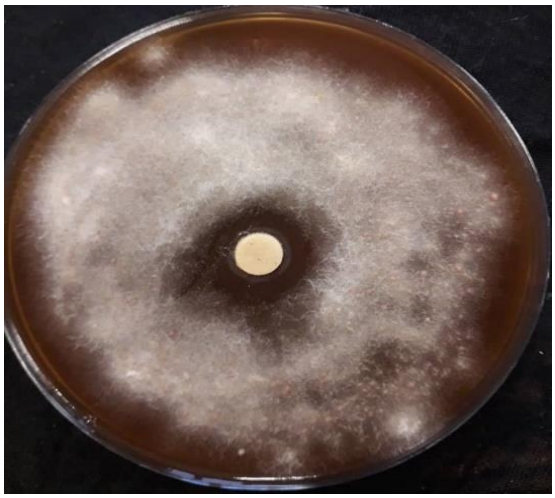


Figure 3. The antifungal effect of *Calotropis procera* on *Fusarium solani*.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یافته‌های آزمون ضدمیکروبی چاهک آگار در راستای نتایج آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود و اثر ضدقارچی عصاره آبی استبرق وابسته به نوع سویه قارچ و غلظت عصاره بود (شکل ۴). اثر ضد قارچی عصاره (قطر هاله عدم رشد) با افزایش غلظت آن بطور افزایش یافت. علاوه بر این، تمام غلظت‌های عصاره در برابر سویه‌های قارچی مؤثر بودند. قطر هاله عدم رشد برای قارچ‌های *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* در غلظت ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره به ترتیب برابر با ۱۲/۹۰، ۱۱/۱۰، ۱۴/۸۰ و ۱۱/۴۰ میلی‌متر بود. در این راستا، سویه‌های *ساکارومایسس سرویزیه* با بالاترین قطر هاله عدم رشد و سویه *آلترناریا سولانی* با کمترین قطر هاله عدم رشد، به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین گونه‌های قارچی نسبت به عصاره بودند ($p<0.05$). مقایسه نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بطور قابل‌توجهی بالاتر از روش ضدقارچی دیسک دیفیوژن آگار بود. علت این امر را بسیاری از پژوهشگران پیشین به تماس مستقیم بین ماده ضدمیکروبی با میکروارگانیسم در روش انتشار در چاهک نسبت داده‌اند. در روش دیسک دیفیوژن آگار تماس غیرمستقیم بین ماده ضدمیکروب و میکروارگانیسم وجود دارد و در واقع ماده ضدمیکروب لازم است از دیسک کاغذی به سطح محیط کشت میکروبی نفوذ یابد [۱۲، ۲۱، ۲۲].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

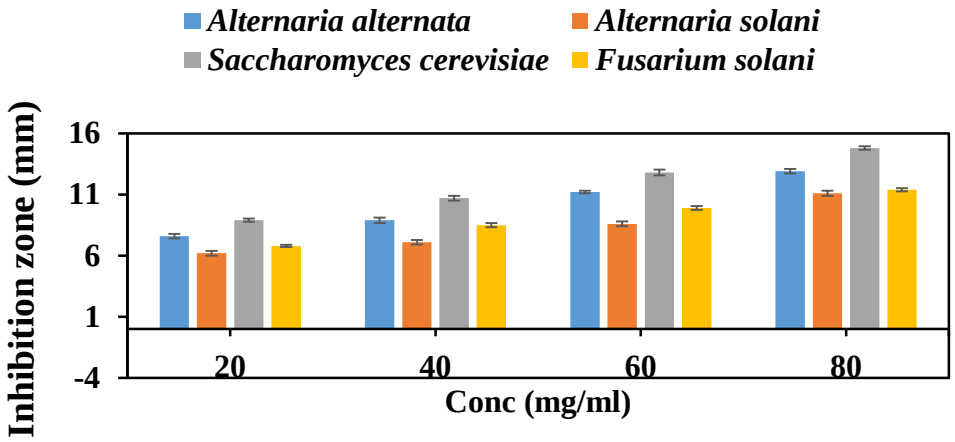


Figure 4. Antifungal activity of *Calotropis procera* extract based on well diffusion agar method.

نتایج اثر ضدمیکروبی عصاره با استفاده از روش‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) در جدول ۱، ارائه شده است. مطابق نتایج، کمترین MIC و MFC در راستای نتایج سایر روش‌های ضدقارچی متعلق به *ساکارومایسس سرویزیه* بود که بیانگر بیشترین حساسیت بین سویه‌های قارچی نسبت به عصاره را نشان داد. مقادیر MIC برای *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* به ترتیب معادل ۳۲، ۱۲۸، ۱۶ و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. در حالیکه مقادیر MFC برای این سویه‌ها به ترتیب برابر با ۱۲۸، > ۵۱۲، ۱۲۸ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد.

Table 1. Antifungal activity of *Calotropis procera* extract based on MIC and MFC methods

Fungi species	MIC (mg/ml)	MFC (mg/ml)
Alternaria alternata	32	128
Alternaria solani	128	> 512
Saccharomyces cerevisiae	16	64
Fusarium solani	128	512

نتایج اثر ضدمیکروبی قارچ‌کش نیستاتین و برهمکنش آن با عصاره آبی استبرق در شکل ۵، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که نیستاتین در برابر تمام قارچ‌ها مؤثر است و بیشترین اثر آن به ترتیب بر *ساکارومایسس سرویزیه* (۲۱/۸ میلی‌متر) مشاهده شد (شکل ۵). برهمکنش نیستاتین با عصاره جاشیر سبب بهبود فعالیت ضدمیکروبی نیستاتین گردید. بطوریکه میانگین قطر هاله عدم رشد نیستاتین از ۱۶/۶۰، ۱۴/۷۰، ۲۱/۸۰ و ۱۸/۱۰ میلی‌متر برای *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* به ۱۹/۲۰، ۱۵/۲۰، ۲۲/۸۰ و ۱۹/۱۰۰ میلی‌متر در حضور نیستاتین + عصاره آبی استبرق افزایش یافت که اثر هم‌افزایی بین عصاره و نیستاتین را نشان می‌دهد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

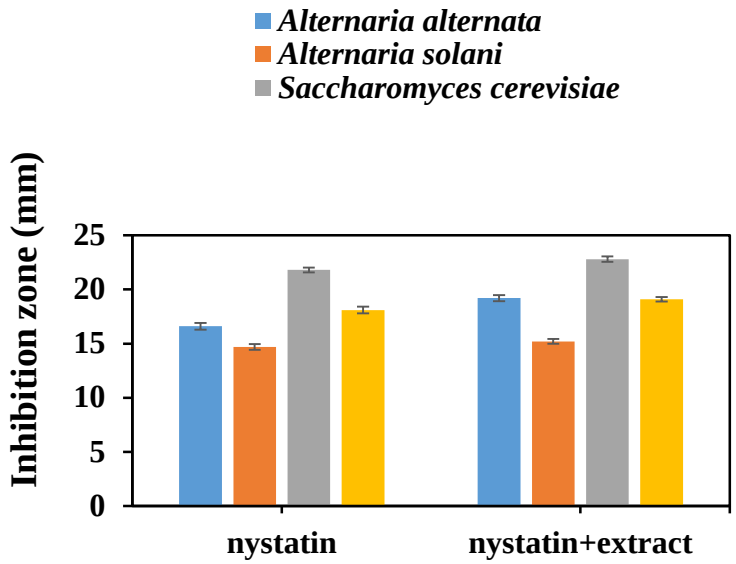


Figure 5. The mean inhibition zone diameter (mm) of nystatin and its interaction with *Calotropis procera* extract on some fungal species.

اثر ضد قارچی برای ترکیبات فنولی، از طریق اختلال در غشای سلولی قارچ رخ می‌دهد [۲۳]. در پژوهشی که ننا و همکاران (۲۰۱۳)، انجام دادند مشخص گردید قطر هاله عدم رشد عصاره استبرق برای سویه‌های قارچی بیماری‌زا به طور متوسط ۱۰/۵ تا ۳۰ میلی‌متر بود [۲۴]. یسمین و همکاران (۲۰۰۸)، اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه استبرق را تایید کردند [۲۵]. کریم و همکاران (۲۰۰۸)، نیز در مطالعه‌ای دیگر اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی برگ استبرق را نیز اثبات کردند [۲۶]. با توجه به اینکه عصاره گیاهی غنی از ترکیبات ترپنی هستند، می‌توان اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی را نیز به این ترکیبات نسبت داد. ترکیبات ترپنی با مکانیسم‌های از جمله اختلال در غشاء تخریب میتوکندری، مهار انتقال الکترون (مهار پمپ پروتون) و مهار ATPase است [۲۳، ۲۷، ۲۸].

۴- نتیجه‌گیری نهایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره آبی استبرق دارای اثر ضد قارچی در برابر *آلترناریا آلترناتا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* بود. فعالیت ضدقارچی عصاره استبرق با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. با توجه به نتایج ضدقارچی عصاره در شرایط برون-تنی به نظر می‌رسد عصاره آبی استبرق می‌تواند به عنوان یک عامل ضد قارچ طبیعی برای مهار رشد قارچ‌های بیماری‌زا در میوه‌ها و سبزیجات تازه استفاده شود. با این حال، پژوهش‌های بیشتری در این زمینه لازم است انجام گردد.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی کنند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]

[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

۶- منابع

[1] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., & Mortazavi, A. (2014). Investigating the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the Lavandula stoechas L. and Rosmarinus officinalis L. extracts on pathogen bacterias "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, *5*(2), 91-101.

[2] Alizadeh Behbahani, B., & Fooladi, A. A. I. (2018). Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhlaseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*, *114*, 204-208.

[3] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of Mentha pulegium essential oil and its application in Ocimum basilicum seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4° C). *Food Science & Nutrition*, *9*(10), 5600-5615.

[4] Yazdi, F. T., & Alizadeh Behbahani, B., (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, *4*(4), 56-62.

[5] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, *4*(7), 1652-1658.

[6] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, *8*(12), 6497-6512.

[7] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M. (2012). Antimicrobial activity of Avicennia marina extracts ethanol, methanol & glycerin against Penicillium digitatum (citrus green mold). *Scientific Journal of Microbiology*, *1*(7), 147-151.

[8] Gholamshahi, S., Vakili, M. A., Shahdadi, F., & Salehi, A. (2014). Comparison of total phenols and antiradical activity of flower, leaf, fruit and latex extracts of milkweed (Calotropis procera) from Jiroft and Bam cities. *Int J Biosci*, *4*, 159-164.

[9] Al Sulaibi, M. A., Thiemann, C., & Thiemann, T. (2020). Chemical constituents and uses of Calotropis procera and Calotropis gigantea–a review (Part I–the plants as material and energy resources). *Open Chemistry Journal*, *7*(1).

[10] Quazi, S., Mathur, K., Arora, S., & Wing, P. (2013). Calotropis procera: An overview of its phytochemistry and pharmacology. *Indian Journal of Drugs*, *1*(2), 63-69.

[11] Raisi, A., Farjanikish, G., Abbasi, M., Pirzadeh, A., Kord, A., & Ghalandari, F. (2017). Repairing effect of Latex and hydro-alcoholic extract of Calotropis procera on wound healing in rat. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, *26*(146), 1-8.

[12] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization, 11*, 847-863.

[13] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Noorbakhsh, H., Riazi, F., Jajarmi, A., & Yazdi, F. T., (2016). Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of Myrtus communis on pathogenic strains causing infection, *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(2), e5989.

[14] Tabatabaei Yazdi, F., Alizade Behbahani, B., & Heidari Sureshjani, M. (2014). The comparison of antimicrobial effects of Chevil (Ferulago angulata) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, *17*(3), 35-46.

[15] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of Kelussia odoratissima extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, *5*(2), 115-120.

[16] Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of (Thymus daenensis) essential oil against spoilage fungi causing apple rot. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 17*(5), 691-700.

[17] Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the antifungal effect of Froriepia subpinnata essential oil on Aspergillus niger (black mold) and Botrytis cinerea (gray mold) grape poisoning agent: A study" in vitro". *Journal of Food Science and Technology (Iran), 17*(108), 75-83.
[18] Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2022). Chemical properties and evaluation of growth inhibitory and lethal activity of fungi causing spoilage and mold after apple fruit harvest using Salvia mirzayanii essential oil. *Journal of Food Science and Technology (Iran), 19*(131), 223-231.
[19] Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2023). Evaluation of total phenol and flavonoids, radical scavenging ability and antifungal effect of Ficus benghalensis ethanolic extract on fungi species causing rot in orange fruit during storage. *Journal of Food Science and Technology (Iran), 19*(132), 173-181.
[20] Sosani Gharibvand, Z., Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Jooyandeh, H. (2020). Investigation of the functional groups of bioactive compounds, radical scavenging potential, antimicrobial activity and cytotoxic effect of Callistemon Citrinus aqueous extract on cell line HT29: A laboratory study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 19*(5), 463-484.
[21] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 35*, 102102.
[22] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. (2018). Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial pathogenesis, 114*, 449-452.
[23] Lagrouh, F., Dakka, N., & Bakri, Y. (2017). The antifungal activity of Moroccan plants and the mechanism of action of secondary metabolites from plants. *Journal de mycologie medicale, 27*(3), 303-311.
[24] Nenaah, G. (2013). Antimicrobial activity of Calotropis procera Ait.(Asclepiadaceae) and isolation of four flavonoid glycosides as the active constituents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 29*, 1255-1262.
[25] Yesmin, M. N., Uddin, S., Mubassara, S., & Akond, M. (2008). American-Eurasian J. *Agric. & Environ. Sci, 4*(5), 550-553.
[26] Kareem, S., Akpan, I., & Ojo, O. (2008). Antimicrobial activities of Calotropis procera on selected pathogenic microorganisms. *African journal of biomedical research, 11*(1).
[27] Yazdi, F. T., Behbahani, B. A., Vasiee, A., Mortazavi, S. A., & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of Dorema aucheri (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*, *6*(1).
[28] Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., Mortazavi, A., Gholian, M. M., Zendeboodi, F., & Vasiee, A. (2014). Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic Eucalyptus camaldulensis L. leaves extract against Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus epidermidis. *Archives of Advances in Biosciences*, *5*(2).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of the inhibitory, fungicidal and interactive effects of the aqueous extract of Calotropis procera on *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Fusarium solani* "*in vitro*"

Armin Ahmad Nejhad[1], Behrooz Alizadeh Behbahani[*2], *Mohammad Hojjati[3]*, *Alireza Vasiee[4]*, *Mohammad Amin Mehrnia[2]*

1. MSc student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

4. PhD, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

ABSTRACT

Calotropis procera from the Apocynaceae family is called Stabregh in Iran. This plant is found in tropical areas and southern coasts in Iran and North Africa, Middle East Asia, and Southeast Asia on coastal sand dunes. In this study, the *C .procera* extract was separated using water solvent. The antifungal effect of *C. procera* aqueous extract on *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Fusarium solani* was investigated. The antifungal activity was evaluated through, disk diffusion agar (*Kirby-Bauer)*, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum fungicidal concentration (MFC). In the combined mode (interaction) of *C. procera* aqueous extract with nystatin antibiotic was investigated. In general, *Saccharomyces cerevisiae* and *Alternaria solani* were the most sensitive and resistant fungal strains with the highest and the lowest diameter of inhibition zone, respectively. So that the diameter of the inhibition zone for *Saccharomyces cerevisiae* and *Alternaria solani* in the presence of 80 mg/ml extract concentration was equal to 13.20 and 8.20 mm, respectively. In the interaction of *C. procera* aqueous extract with nystatin antibiotic, synergistic mode was observed for all fungal strains. The MIC and MFC values for *S. cerevisiae* were 32 and 128 mg/mL, respectively. The MIC and MFC results for *Alternaria solani* were found to 256 and > 512 mg/mL, respectively.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/8/2
Accepted: 2023/9/11

Keywords:

Calotropis procera,
Antifungal activity,
Nystatin,
Inhibition zone diameter.

DOI: **10.22034/FSCT.20.143.204**
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.143.15.7

*Corresponding Author E-Mail:
B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-26]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.143.14.6]
[DOI: 10.22034/FSCT.20.143.204]