نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴

دوره ۹، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، صفحات ۴۹- ۶۲

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی تره‌یکوهی ایرانی (*Allium iranicum*) و سماق (*Rhus coriaria* L.) بر باکتری‌های بیماریزای آبزیان

راحم خوشبخت[1*]، مهدی مرادی[2]، سپیده غلامی سفیدکوهی[2]، پولین شهره[3]

۱- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
۲- دانش‌آموخته کارشناسی علوم‌آزمایشگاهی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
۳- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
نویسنده مسئول: **راحم خوشبخت** دکترای تخصصی باکتری شناسی
آدرس ایمیل: khoshbakht.r@gmail.com r.khoshbakht@ausmt.ac.ir
آدرس: آمل، ابتدای جاده محمودآباد، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل.
تلفن تماس: ۰۹۱۱۳۹۱۹۰۵۹ شماره فکس: ۰۱۱-۴۴۴۴-۲۱۳۷

دریافت مقاله: ۰۸ دی ۱۴۰۴، بازنگری: ۱۷ بهمن ۱۴۰۴، پذیرش نهایی: ۱۲ خرداد ۱۴۰۵

10.22034/nfvm.2026.569070.1310

چکیده

بیماری‌های باکتریایی از مهم‌ترین چالش‌های صنعت آبزی‌پروری به‌شمار می‌روند و استفاده‌ی گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل عفونت‌ها، منجر به بروز مقاومت‌های دارویی شده است. در این راستا، جستجوی جایگزین‌های طبیعی و ایمن مانند عصاره‌های گیاهی ضروری است. هدف از مطالعه‌ی حاضر، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ی آبی سماق (*Rhus coriaria*) و معرفی پتانسیل ضدمیکروبی عصاره‌ی گونه بومی و کم‌تر مطالعه‌شده‌ی تره‌ی کوهی ایرانی (*Allium iranicum*) و همچنین بررسی اثر ترکیب آن‌ها علیه سه پاتوژن مهم آبزیان شامل *استرپتوکوکوس اینیه*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *آئروموناس هیدروفیلا* بود. عصاره‌های آبی گیاهان با روش خیساندن سرد (نسبت ۱:۲۰ وزن/حجم، ۴۸ ساعت) تهیه شدند (بازده عصاره خشک: سماق ۱۰٪، تره‌ی کوهی ایرانی ۷٪). آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) با روش رقت لوله‌ای در محیط نوترینت براث براساس اصول کلی دستورالعمل CLSI (با اصلاحاتی عمده برای سازگاری باکتری‌ها) انجام شد. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره‌ی سماق دارای فعالیت ضدباکتریایی قوی‌تری نسبت به عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی بوده و کم‌ترین مقادیر MIC را به‌ویژه علیه *استرپتوکوکوس اینیه* نشان داد. ترکیب عصاره‌ها موجب بهبود فعالیت ضدمیکروبی **تره‌ی کوهی ایرانی** شد، اما اثر آن از عصاره‌ی سماق به تنهایی فراتر نرفت. تحلیل نسبت MBC/MIC نشان داد که بیش‌تر تیمارها دارای اثر باکتری‌کشی بودند، اگرچه عصاره‌ی سماق علیه باکتری‌های گرم‌مثبت اثر باکتریواستاتیک نشان داد. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سماق و ترکیب آن با **تره‌ی کوهی ایرانی** می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های طبیعی و امیدبخش برای کنترل عفونت‌های باکتریایی در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: *فعالیت ضدباکتریایی، سماق (Rhus coriaria)، تره‌ی کوهی ایرانی (Allium iranicum)، بیماری‌های باکتریایی آبزیان*

مقدمه

بیماری‌های باکتریایی یکی از تهدیدات عمده‌ی صنعت آبزی‌پروری در سراسر جهان محسوب می‌شوند که سالانه خسارات اقتصادی قابل توجهی را به بار می‌آورند (۱). در میان عوامل بیماری‌زا، باکتری‌های گرم‌مثبت نظیر *استرپتوکوکوس اینیه* (*Streptococcus iniae*) و *لاکتوکوکوس گارویه* (*Lactococcus garvieae*) و همچنین باکتری‌های گرم‌منفی نظیر *آئروموناس هیدروفیلا* (*Aeromonas hydrophila*) از اهمیت ویژه‌ای هستند. این پاتوژن‌ها طیف وسیعی از گونه‌های ماهیان پرورشی و وحشی را مبتلا کرده و باعث ایجاد سپتی‌سمی، علائم عصبی و تلفات انبوه می‌شوند (۲). رویکرد متداول برای کنترل این عفونت‌ها، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی است. با این حال، کاربرد بی‌رویه و پیشگیرانه‌ی این عوامل، نه تنها منجر به باقی‌ماندن ضایعات دارویی در بافت ماهی و تهدید سلامت مصرف‌کننده شده، بلکه پیامد خطرناک‌تر یعنی شکل‌گیری و گسترش سریع سویه‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو را نیز به همراه داشته است. این مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، کارایی درمان را کاهش داده و دستیابی به تولید پایدار در آبزی‌پروری را با چالش مواجه ساخته است. بنابراین، جستجو و معرفی عوامل ضد میکروبی جدید، ایمن و با منشأ طبیعی به‌عنوان جایگزین یا مکمل آنتی‌بیوتیک‌های متعارف، به یک ضرورت فوری در مدیریت سلامت آبزیان تبدیل شده است (۳).

در این میان، گیاهان دارویی به‌دلیل دارا بودن ترکیبات ثانویه زیست‌فعال (مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی) که اغلب دارای خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی هستند، در کانون توجه تحقیقات قرار گرفته‌اند. این ترکیبات می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند تخریب دیواره‌ی سلولی، اختلال در نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی و مهار سنتز ماکرومولکول‌ها، رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را مهار کنند (۴). استفاده از عصاره‌های گیاهی، به ویژه با روش‌های استخراج سبز مانند استخراج آبی، می‌تواند گامی به سوی آبزی‌پروری پایدار و دوستدار محیط زیست باشد (۵).

دو گیاه بومی و ارزشمند در طب سنتی ایران که پتانسیل بالایی برای بهره‌برداری در این عرصه دارند، عبارتند از: تره‌ی کوهی ایرانی (*Allium iranicum*) از تیره‌ی *Alliaceae* گیاهی با سابقه طولانی در مصارف خوراکی و دارویی که به‌دلیل دارا بودن ترکیبات گوگردی نظیر آلیسین و مشتقات آن، به طور گسترده‌ای برای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه قرار گرفته است (۶) و دوم سماق (*Rhus coriaria*) از تیره‌ی *Anacardiaceae* که میوه‌ی این گیاه به‌طور سنتی به‌عنوان چاشنی استفاده می‌شود و سرشار از ترکیبات پلی‌فنولی (مانند تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و اسیدهای فنولیک) است که مسئول فعالیت‌های بیولوژیک قدرتمند از جمله مهار رشد طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (۷). با این توصیف و با توجه به پراکنش جغرافیایی این گیاهان و در دسترس بودن آن‌ها، ارزیابی علمی پتانسیل ضد باکتریایی عصاره‌های آن‌ها علیه پاتوژن‌های مهم آبزیان ضروری به‌نظر می‌رسد.

هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ی آبی تهیه شده از تره‌ی کوهی ایرانی و سماق و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) آن‌ها علیه سه باکتری بیماری‌زای مهم در ماهیان، یعنی *استرپتوکوکوس اینیه*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *آئروموناس هیدروفیلا* می‌باشد. تلاش بر این است تا نتایج این تحقیق، گامی در جهت معرفی جایگزین‌های گیاهی و طبیعی برای کنترل بیماری‌های باکتریایی در آبزی‌پروری و کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تهیه‌ی عصاره: نمونه‌های تازه‌ی سماق (*Rhus coriaria* L) و تره‌ی کوهی ایرانی

(*Allium iranicum*) در فصل رویشِ مناسب، از رویشگاه‌های طبیعی منتخب در استان چهارمحال و بختیاری، ایران جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها به‌طور تقریبی از شهرستان شهرکرد، در مناطق کوهستانی با ارتفاع حدود ۱۲۰۰–۱۵۰۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری شدند. گیاهان از مناطق روستایی و کوهستانی این شهرستان که به‌صورت طبیعی رشد می‌کنند و به‌طور سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند، برداشت شدند. نمونه‌ها شماره‌گذاری داخلی آزمایشگاهی شده و به‌عنوان کد نمونه در سوابق نگهداری می‌شوند. شناسایی گیاه‌شناسی توسط متخصص آرایه‌شناسی گیاهی در دانشکده گیاهان دارویی، دانشگاه علوم و فنون ویژه مدرس آمل، ایران تأیید گردید. مواد گیاهی جمع‌آوری شده به‌طور کامل جهت زدودن خاک و بقایای اضافی شستشو شده و در محیط سایه و دارای تهویه‌ی مناسب در دمای اتاق خشک شدند و سپس برای عصاره‌گیری آماده شدند. میوه‌های تازه‌ی سماق و گیاه تره‌ی کوهی ایرانی پس از شستشوی کامل، در سایه و دمای اتاق خشک شده و سپس به‌صورت مکانیکی به پودر نرم تبدیل شدند. پودرهای گیاهی از الک استاندارد عبور داده شدند تا اندازه ذرات یکنواخت حاصل شود. برای تهیه عصاره‌های آبی، پودر هر یک از گیاهان به‌طور جداگانه با آب مقطر به نسبت ۱:۲۰ (حجم/وزن) مخلوط شده و تحت روش خیساندن سرد به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق با استفاده از شیکر اوربیتال و تکان‌های متناوب قرار گرفتند. پس از دوره‌ی خیساندن، سوسپانسیون‌های گیاهی ابتدا با کاغذ صافی واتمن صاف شده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ شدند تا عصاره‌ی شفاف حاصل‌گردد. مایع رونشین (سوپرناتانت) حاصل برای حذف ذرات باقی‌مانده از فیلتر سرنگی با اندازه‌ی منافذ ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. در نهایت، فیلترهای حاصل به‌عنوان عصاره‌های آبی خام جمع‌آوری شده و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون‌های ضدمیکروبی نگهداری شدند (۸). برای کنترل اثرات غیر اختصاصی مربوط به ماتریکس عصاره و تغییرات pH، اقدامات کنترلی انجام شد. کنترل ماتریکس (حلال) شامل لوله‌هایی بود که تنها با آب مقطر (بدون عصاره) در همان حجم اضافه شده به تیمارهای عصاره، تهیه شدند تا اثرات احتمالی کدورت یا اجزای غیرفعال عصاره در خوانش MIC/MBC ارزیابی شود. همچنین pH عصاره‌ها اندازه‌گیری گردید: pH عصاره‌ی آبی سماق حدود ۳/۷–۳/۰ بود، در حالی که pH عصاره‌ی آبی تره‌ی کوهی ایرانی در حدود ۶/۵–۵/۵ قرار داشت. برای کنترل pH، pH نهایی محیط کشت پس از اضافه شدن عصاره‌ها نیز ثبت شد تا مشخص گردد هرگونه مهار رشدِ مشاهده‌شده بیشتر ناشی از ترکیبات بیواکتیو (Bio active عصاره است تا تغییرات اسیدیته. با این حال، لازم به ذکر است که در این مطالعه، کنترل عملکردی جداگانه‌ای (مانند تنظیم pH محیط کشت با یک اسید خنثی یا خنثی‌سازی عصاره) برای تفکیک دقیق سهم اسیدیته از اثر ترکیبات زیست‌فعال عصاره‌ی سماق انجام نشد. علاوه‌بر این، پس از عبور عصاره‌ها از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر، یک بررسی استریلیتی انجام شد و هیچ رشد میکروبی مشاهده نگردید، که نشان‌دهنده‌ی عدم آلودگی عصاره‌ها بود.

در این مطالعه، درصدهای گزارش شده برای MIC و MBC بیانگر رقت عصاره‌ی آبی خام گیاه (در نظر گرفته شده به‌عنوان ۱۰۰٪) در محیط کشت هستند و نشان‌دهنده‌ی غلظت دقیق ترکیبات فعال (mg/mL) نمی‌باشند. برای افزایش شفافیت و قابل مقایسه بودن نتایج، بازده عصاره‌ها بر اساس وزن خشک پودر گیاهی (dry weight) تعیین و گزارش شد: بازده عصاره‌ی آبی سماق حدود ۱۰٪ (g عصاره خشک/۱۰۰ g پودر گیاهی خشک) و بازده عصاره‌ی آبی تره‌ی کوهی ایرانی حدود ۷٪ (g عصاره‌ی خشک/۱۰۰ g پودر گیاهی خشک) بود. برای شفافیت بیش‌تر، ۱۰۰٪ عصاره‌ی خام به غلظت ماده‌ی خشک استخراج شده محاسبه شد: نسبت ۱:۲۰ وزن به حجم معادل ۵۰ میلی‌گرم پودر گیاهی در هر میلی‌لیتر است که با توجه به بازده عصاره، برای سماق تقریباً 5 mg/mL و برای تره‌ی کوهی ایرانی حدود 5/3 mg/mL می‌شود. بر این اساس، می‌توان تقریباً غلظت ماده‌ی خشک عصاره‌ی خام را

در هر رقت بر حسب mg/mL گزارش نمود، اگرچه تفاوت‌های ناشی از محل برداشت، فصل و فرآوری گیاهی می‌تواند بر میزان ترکیبات فعال مؤثر باشد.

سویه‌های باکتریایی و شرایط کشت: سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این مطالعه (جدایه‌های بالینی پاتوژن های آبزیان که پیش از این در آزمایشگاه باکتری شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی جداسازی و با استفاده از روش‌های میکروب‌شناسی و بیوشیمیایی شناسایی شده بودند) شامل *استرپتوکوکوس اینیه* (AUSMT-Patho۱۰۱-)، *لاکتوکوکوس گارویه* (AUSMT-Patho۱۰۲-) و *آئروموناس هیدروفیلا* (AUSMT-Patho۱۰۳-) از کشت‌های ذخیره‌ی آزمایشگاهی در آزمایشگاه باکتری‌شناسی گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، تهیه شدند. سویه‌ها بر روی محیط کشت نوترینت آگار در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شده و ۲۴ ساعت پیش از شروع آزمایش بر روی پلیت‌های تازه‌ی نوترینت آگار کشت مجدد شدند تا از زنده‌مانی و رشد فعال آن‌ها اطمینان حاصل شود. برای مراحل آزمایشی، یک کلونی منفرد از هر سویه‌ی باکتریایی در محیط نوترینت براث تلقیح و به‌مدت ۲۴–۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت شرایط هوازی انکوبه شد. سپس از کشت‌های باکتریایی برای تهیه‌ی سوسپانسیون‌های استاندارد شده جهت آزمون‌های ضدمیکروبی استفاده گردید. کلیه‌ی مراحل در شرایط استریل و با رعایت اصول آسپتیک انجام شد تا از آلودگی جلوگیری شود.

تهیه‌ی سوسپانسیون باکتریایی: با توجه به اهمیت استانداردسازی مایه‌ی تلقیح باکتریایی برای دستیابی به نتایج تکرارپذیر در آزمون‌های حساسیت ضد میکروبی و تعیین دقیق حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، سوسپانسیون‌های استاندارد شده از کشت‌های یک‌شبه، *استرپتوکوکوس اینیه*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *آئروموناس هیدروفیلا* تهیه شدند. به‌طور خلاصه، مقدار معیّنی از کلونی‌های باکتریایی از پلیت‌های نوترینت آگار برداشته و در نرمال سالین استریل سوسپانسیون شد. کدورت هر سوسپانسیون با استفاده از استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند که معادل تقریبی ۱×۱۰^{۸} واحد تشکیل‌دهنده‌ی کلونی در میلی‌لیتر (CFU/mL) است، تنظیم گردید. کدورت با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر تأیید شد و سپس رقت‌های لازم با نرمال سالین استریل جهت رسیدن به غلظت باکتریایی مطلوب برای آزمون‌های ضدمیکروبی انجام شد (۹). کلیه‌ی سوسپانسیون‌ها بلافاصله پیش از استفاده تهیه شدند تا از زنده‌مانی و یکنواختی باکتری‌ها اطمینان حاصل گردد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC): حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره‌های آبی سماق (*Rhus coriaria*) و تره‌ی کوهی ایرانی (*Allium iranicum*) به‌صورت جداگانه و نیز فرمولاسیون ترکیبی آن‌ها (نسبت ۵۰:۵۰ حجمی/حجمی) علیه *استرپتوکوکوس اینیه*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *آئروموناس هیدروفیلا* با استفاده از روش تهیه‌ی رقت در براث و مطابق با اصول کلی دستورالعمل‌های مؤسسه‌ی استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) با تغییرات عمده براساس باکتری‌های مورد آزمون تعیین شد (۱۰). در این مطالعه، آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و باکتری‌کشی با استفاده از محیط Nutrient Broth به‌عنوان یک پروتکل اصلاح‌شده انجام شد. اگرچه مطابق دستورالعمل‌های CLSI معمولاً استفاده از Mueller–Hinton Broth یا فرم‌های تعدیل‌شده آن برای باکتری‌های سخت‌پسند توصیه می‌شود، اما ارزیابی‌های مقدماتی در شرایط آزمایشگاهی ما نشان داد که سویه‌های *S.iniae* و *L.garvieae* در محیط Nutrient Broth رشد پایدارتر، یکنواخت‌تر و قابل تکرارتری دارند. انتخاب محیط Nutrient Broth براساس آزمایش‌های مقدماتی انجام شد که رشد یکنواخت و پایدار باکتری‌ها را نشان داد. معیار ارزیابی، مشاهده مستقیم رشد باکتری‌ها بود. ازاین‌رو، به‌منظور افزایش تکرارپذیری نتایج و یکنواختی رشد باکتریایی، این محیط کشت انتخاب شد.

رقت‌های سریالی دوبرابر از هر عصاره و ترکیب ۵۰:۵۰

آن‌ها در محیط نوترینت براث استریل تهیه شد تا محدوده‌ای از غلظت‌ها فراهم گردد. به‌طور خلاصه، ۱ میلی‌لیتر از هر عصاره یا ترکیب عصاره به اولین لوله‌ی آزمایش اضافه شده و سپس رقت‌سازی سریالی در لوله‌های بعدی انجام شد. به هر لوله MIC، ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی استاندارد شده با غلظت تقریبی 10^8 CFU/mL اضافه شد. با توجه به حجم نهایی هر لوله (۱ میلی‌لیتر براث)، بار نهایی تلقیح در هر لوله حدود ۲× 10^6 CFU/mL بود. اگرچه این مقدار کمی بالاتر از غلظت توصیه‌شده CLSI (≈5×10^5 CFU/mL) است، با توجه به پایدار بودن رشد سویه‌ها در محیط Nutrient Broth و تکرارپذیری آزمایش‌ها، این حجم تلقیح انتخاب شد. کلیه‌ی سوسپانسیون‌ها پیش از استفاده با اسپکتروفوتومتر استاندارد شدند و رقت‌های لازم برای دستیابی به بار باکتریایی مطلوب اعمال گردید. لوله‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط هوازی انکوبه گردید. در کلیه‌ی آزمایش‌ها، کنترل‌مثبت (سوسپانسیون باکتری بدون عصاره) و کنترل‌منفی (براث بدون باکتری) نیز درنظر گرفته شد. پس از دوره‌ی انکوباسیون، لوله‌ها از نظر وجود رشد باکتریایی قابل مشاهده بررسی شدند. MIC به‌عنوان کم‌ترین غلظت از عصاره یا ترکیبِ عصاره تعریف شد که در آن هیچ رشد قابل مشاهده‌ای از باکتری مورد آزمایش مشاهده نشد. MIC بر اساس عدم رشد قابل مشاهده‌ی باکتری تعیین شد. برای کنترل اثر رنگ و کدورت طبیعی عصاره‌ها، کنترل ماتریکس/حلال در تمام آزمایش‌ها استفاده شد و خوانش رشد به‌صورت مشاهده‌ی چشمی مستقیم انجام گرفت.

نسبت حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) به حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) برای تعیین ماهیت ضدباکتریایی عصاره‌های مورد آزمایش استفاده شد. نسبت MBC/MIC ≥ ۴ به‌عنوان اثر کشنده (باکتری‌کش) و نسبت MBC/MIC >۴ بزرگ‌تر از ۴ به‌عنوان اثر بازدارنده‌ی رشد (باکتری‌استاتیک) تفسیر گردید. این رویکرد بینشی در مورد این‌که آیا عصاره‌ها اثر کشنده یا مهارکننده‌ی رشد بر سویه‌های باکتریایی مورد آزمایش دارند، ارائه می‌دهد. کلیه آزمون‌ها به‌صورت سه تکرار تکنیکی (technical replicates) انجام شد تا از دقت و تکرارپذیری نتایج اطمینان حاصل شود. عصاره‌ها تنها یک‌بار تهیه شده و تکرارهای زیستی (biological replicates) برای عصاره‌ها انجام نگرفته است (۱۰،۱۱).

تحلیل آماری: تمامی آزمایش‌ها به‌صورت سه‌تکرار انجام شد و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف‌معیار ارائه شده‌اند. تفاوت‌های بین مقادیر MIC و MBC در میان تیمارها و گونه‌های باکتریایی با استفاده از آزمون کروسکال–والیس (Kruskal–Wallis test) تحلیل شده و سپس مقایسه‌های زوجی با آزمون من-ویتنی یو (Mann–Whitney U test) انجام گرفت. سطح معنی‌داری برای مقایسه‌های زوجی با اصلاح Bonferroni برابر ۰/۰۱۶ = α در نظر گرفته شد. سطح معناداری آماری آزمون کلی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد (آزمون کلی ۰/۰۵ و مقایسه‌های زوجی ۰/۰۱۶). تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics نسخه‌ی ۲۳ (شرکت IBM، آرمانک، نیویورک، آمریکا) انجام شد.

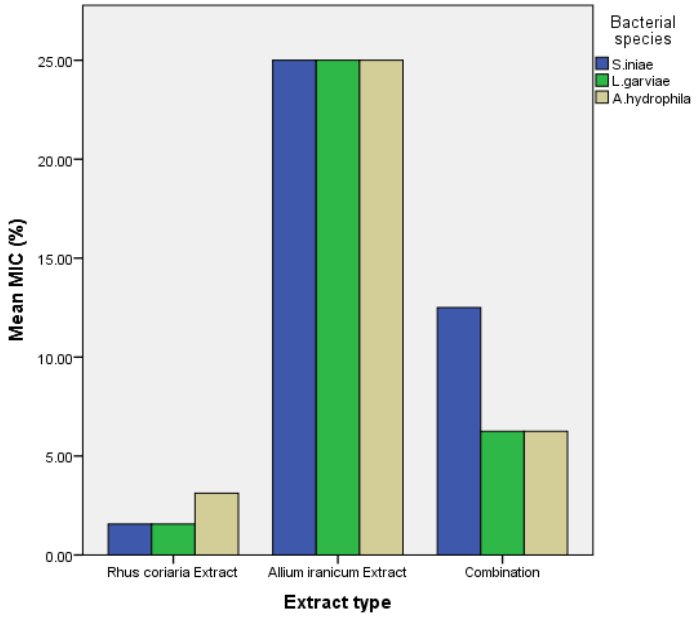
نتایج

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌ی سماق علیه باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* به‌ترتیب ۳٪/۱۲۵ (معادل 156/0 mg/ml)، ۱/۵۶۲۵٪ (معادل 078/0 mg/ml) و ۱/۵۶۲۵٪ (معادل 078/0 mg/ml) تعیین شد. عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی در برابر هر سه باکتری مورد بررسی MIC برابر با ۲۵٪ (معادل 875/0 mg/ml) نشان داد. در تیمار ترکیبی عصاره‌های سماق و تره‌ی کوهی با نسبت ۵۰:۵۰، مقادیر MIC برای باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *لاکتوکوکوس گارویه* ۶/۲۵٪ (معادل 265/0 mg/ml) و برای باکتری *استرپتوکوکوس اینیه* ۱۲/۵٪ (معادل 531/0 mg/ml) به‌دست آمد (جدول ۱ و شکل ۱).

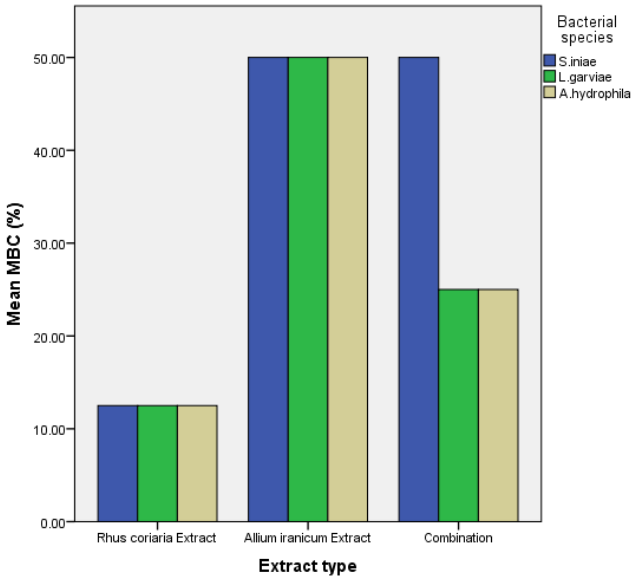
نتایج حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) نشان داد که عصاره‌ی سماق برای هر سه باکتری *آئروموناس هیدروفیلا*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* دارای MBC برابر با ۱۲/۵٪ (معادل 625/0 mg/ml) است. عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی MBC معادل ۵۰٪ (معادل 75/1 mg/ml) را در برابر هر سه سویه‌ی باکتریایی نشان داد. در تیمار ترکیبی عصاره‌های سماق و تره‌ی کوهی ایرانی (۵۰:۵۰)، مقادیر MBC برای باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *لاکتوکوکوس گارویه* ۲۵٪ (معادل 062/1 mg/ml) و برای باکتری *استرپتوکوکوس اینیه* ۵۰٪ (معادل 125/2 mg/ml) تعیین گردید (جدول ۱ و شکل ۲).

جدول ۱- فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آبی سماق، تره‌ی کوهی ایرانی و ترکیب آن‌ها

تیمار	باکتری	MIC (%)	MIC (mg عصاره‌ی خشک/ml)	MBC (%)	MBC (mg عصاره خشک/ml)	نسبت MBC/MIC	طیف اثر
سماق (*R. coriaria*)	*A. hydrophila*	125/3	156/0	5/12	625/0	4	باکتری‌کش
	L. garvieae	5625/1	078/0	5/12	625/0	8	باکتریواستاتیک
	S. iniae	5625/1	078/0	5/12	625/0	8	باکتریواستاتیک
تره‌ی کوهی ایرانی (*A. iranicum*)	*A. hydrophila*	25	875/0	50	75/1	2	باکتری‌کش
	L. garvieae	25	875/0	50	75/1	2	باکتری‌کش
	S. iniae	25	875/0	50	75/1	2	باکتری‌کش
ترکیب ۵۰:۵۰ (سماق + تره‌ی کوهی)	*A. hydrophila*	25/6	265/0 (سماق: ۰/۱۵۶، تره‌ی کوهی: ۰/۱۰۹)	25	062/1 (سماق: ۰/۶۲۵، تره‌ی کوهی: ۰/۴۳۷)	4	باکتری‌کش
	L. garvieae	25/6	265/0 (سماق: ۰/۱۵۶، تره‌ی کوهی: ۰/۱۰۹)	25	062/1 (سماق: ۰/۶۲۵، تره‌ی کوهی: ۰/۴۳۷)	4	باکتری‌کش
	S. iniae	5/12	531/0 (سماق: ۰/۳۱۲، تره‌ی کوهی: ۰/۲۱۹)	50	125/2 (سماق: ۱/۲۵، تره‌ی کوهی: ۰/۸۷۵)	4	باکتری‌کش



شکل ۱- حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌های سماق (*Rhus coriaria*)، تره‌ی کوهی ایرانی (*Allium iranicum*) و ترکیب آن‌ها علیه باکتری‌های *آئرومونـاس هیدروفیلا*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه*. میانگین ± SD نمایش داده شده مربوط به سه تکرار تکنیکی است. عدم وجود تکرار زیستی محدودیت نتایج را نشان می‌دهد.



شکل ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MBC) عصاره‌های سماق (*Rhus coriaria*)، تره‌ی کوهی ایرانی (*Allium iranicum*) و ترکیب آن‌ها علیه باکتری‌های *آئرومونـاس هیدروفیلا*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه*. میانگین ± SD نمایش داده شده مربوط به سه تکرار تکنیکی است. عدم وجود تکرار زیستی محدودیت نتایج را نشان می‌دهد.

برای *آئروموناس هیدروفیلا*، نسبت MBC/MIC عصاره‌ی سماق ۴ بود که نشان‌دهنده‌ی اثر باکتری‌کش است. عصاره‌ی تره‌ی کوهی **ایرانی** و ترکیب عصاره‌های سماق و **تره‌ی کوهی ایرانی** نیز به‌ترتیب با نسبت‌های ۲ و ۴، اثر باکتری‌کش علیه این باکتری نشان دادند. در مورد *لاکتوکوکوس گارویه*، عصاره‌ی سماق نسبت MBC/MIC برابر با ۸ داشت که بیانگر اثر باکتریواستاتیک است، در حالی که عصاره‌ی تره‌ی کوهی و تیمار ترکیبی با نسبت‌های ۲ و ۴ به‌ترتیب، اثر باکتری‌کش نشان دادند. در خصوص *استرپتوکوکوس اینیه*، عصاره‌ی سماق با نسبت MBC/MIC برابر با ۸ اثر باکتریواستاتیک از خود نشان داد، اما عصاره‌ی تره‌ی کوهی **ایرانی** و ترکیب عصاره‌ها به‌ترتیب با نسبت‌های ۲ و ۴ دارای اثر باکتری‌کش بودند. به‌طور کلی، اثر عصاره‌ی سماق بر باکتری‌ها وابسته به گونه بود؛ به‌طوری که که بر *آئروموناس هیدروفیلا* اثر باکتری‌کش و بر *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* اثر باکتریواستاتیک نشان داد.

برای عصاره‌ی سماق (*Rhus coriaria*)، آزمون کروسکال–والیس نشان داد که بین مقادیر MIC در برابر باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P ۰/۰۱۸ =). نتایج آزمون تعقیبی من-ویتنی U نشان داد که *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* به‌طور معنی‌داری نسبت به عصاره‌ی سماق حساس‌تر از *آئروموناس هیدروفیلا* هستند (P<۰/۰۱۶ برای هر دو مقایسه)، در حالی‌که اختلاف معنی‌داری بین *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* مشاهده نشد. در مورد عصاره‌ی تره‌ی کوهی (*Allium iranicum*)، تفاوت معنی‌داری بین مقادیر MIC در میان سه باکتری مورد بررسی مشاهده نشد (p>۰/۰۵) که نشان‌دهنده‌ی اثر ضدمیکروبی یکنواخت این عصاره بر باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت است. در خصوص تیمار ترکیبی عصاره‌های سماق و **تره‌ی کوهی ایرانی** با نسبت ۵۰:۵۰، تحلیل آماری نشان داد که مقادیر MIC این ترکیب به‌طور معنی‌داری کم‌تر از عصاره‌ی تره‌ی کوهی **ایرانی** به‌تنهایی در برابر هر سه باکتری *آئروموناس هیدروفیلا*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* بوده است (P ۰/۰۱۸ =). با این حال، تفاوت معنی‌داری بین اثر ضدمیکروبی ترکیب عصاره‌ها و عصاره‌ی سماق به‌تنهایی مشاهده نشد (p>۰/۰۵). به‌طور کلی، نتایج آماری نشان داد که عصاره‌ی سماق قوی‌ترین فعالیت ضدمیکروبی را دارا بوده و ترکیب عصاره‌ها عمدتاً موجب افزایش کارایی عصاره‌ی تره‌ی کوهی **ایرانی** شده است، بدون آن‌که اثر آن از سماق به‌تنهایی فراتر رود (جدول ۲). توجه داشته باشید که عصاره‌ها تنها یک‌بار تهیه شده و تکرار زیستی مستقل انجام نشده است. بنابراین آزمون‌های آماری صرفا برای مقاصد توصیفی ارائه شده‌اند و نتایج آماری با احتیاط تفسیر می‌شوند. این محدودیت در تحلیل داده‌ها باید در نظر گرفته شود.

جدول ۲- نتایج آزمون من-ویتنی U برای مقایسه‌ی مقادیر MIC

معنی‌داری (α=۰/۰۱۶ =)	مقدار P (Asymp. Sig. دوطرفه)	آماره من-ویتنی U	مقایسه‌ی باکتری‌ها	تیمار (عصاره)
✓	004/0	1	*آئروموناس هیدروفیلا* در برابر *لاکتوکوکوس گارویه*	سماق (*R. coriaria*)
✓	006/0	1	*آئروموناس هیدروفیلا* در برابر *استرپتوکوکوس اینیه*	
غیر معنادار	08/0	10	*لاکتوکوکوس گارویه* در برابر *استرپتوکوکوس اینیه*	

معنی‌داری (= α۰/۰۱۶)	مقدار P (Asymp. Sig. دوطرفه)	آماره من-ویتنی U	مقایسه‌ی باکتری‌ها	تیمار (عصاره)
غیر معنادار	12/0	12	*آئروموناس هیدروفیلا* در برابر *لاکتوکوکوس گارویه*	**تره‌ی کوهی ایرانی** (*A. iranicum*)
غیر معنادار	09/0	11	*آئروموناس هیدروفیلا* در برابر *استرپتوکوکوس اینیه*	
غیر معنادار	14/0	13	*لاکتوکوکوس گارویه* در برابر *استرپتوکوکوس اینیه*	
✓	008/0	2	ترکیب در برابر تره‌ی کوهی (*آئروموناس هیدروفیلا*)	ترکیب (سماق + تره‌ی کوهی ایرانی)
✓	010/0	3	ترکیب در برابر تره‌ی کوهی (*لاکتوکوکوس گارویه*)	
✓	012/0	3	ترکیب در برابر تره‌ی کوهی (*استرپتوکوکوس اینیه*)	
غیر معنادار	09/0	10	ترکیب در برابر سماق (*آئروموناس هیدروفیلا*)	
غیر معنادار	08/0	11	ترکیب در برابر سماق (*لاکتوکوکوس گارویه*)	
غیر معنادار	07/0	12	ترکیب در برابر سماق (*استرپتوکوکوس اینیه*)	

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عصاره‌ی آبی سماق در مقایسه با عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی از قدرت ضدمیکروبی بالاتری علیه باکتری‌های بیماری‌زای آبزیان برخوردار است و پاسخ باکتری‌ها به این عصاره به‌صورت گونه‌ی وابسته متغیر بود. در مقابل، عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی اثر ضدمیکروبی یکنواخت‌تری بر هر سه باکتری مورد بررسی نشان داد که بیانگر حساسیت مشابه باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت به این عصاره است. استفاده از تیمار ترکیبی عصاره‌های سماق و تره‌ی کوهی ایرانی موجب بهبود فعالیت ضدمیکروبی تره‌ی کوهی ایرانی شد، هرچند این ترکیب نتوانست اثر قوی‌تری نسبت به سماق به‌تنهایی ایجاد کند. بررسی نسبت MBC به MIC نیز نشان داد که ماهیت اثر ضدمیکروبی عصاره‌ها بسته به نوع باکتری متفاوت بوده و عصاره‌ی سماق و ترکیب عصاره‌ها در برخی سویه‌ها اثر باکتری‌کش و در برخی دیگر اثر باکتریواستاتیک از خود نشان دادند. این نتایج بیانگر پتانسیل بالاتر سماق به‌عنوان یک عامل ضدمیکروبی گیاهی مؤثر در کنترل باکتری‌های بیماری‌زای آبزیان است.

قدرت ضدمیکروبی بالاتر عصاره‌ی سماق مشاهده‌شده در این مطالعه را می‌توان به حضور ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، تانن‌ها و اسیدهای آلی نسبت داد که به‌طور گسترده به‌عنوان عوامل اصلی فعالیت ضدباکتریایی این گیاه گزارش شده‌اند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این ترکیبات قادرند با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، دناتوره‌کردن پروتئین‌ها و مهار آنزیم‌های حیاتی، منجر به مهار رشد یا مرگ سلول‌های باکتریایی شوند (۱۲،۱۳).

در پژوهش‌های جدید، عصاره‌های مختلف سماق فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت از جمله گونه‌های مرتبط با محیط‌های آبی و همچنین سویه‌های باکتری با مقاومت‌های چندگانه‌ی دارویی نشان داده‌اند (۱۴،۱۵) .همسو با یافته‌های حاضر، برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که حساسیت باکتری‌ها به عصاره‌ی سماق می‌تواند به‌صورت گونه‌ی وابسته متفاوت باشد که این امر به تفاوت در ساختار دیواره‌ی سلولی و سیستم‌های دفاعی باکتری‌ها نسبت داده می‌شود (۱۶). علاوه بر این، گزارش شده است که ترکیبات پلی‌فنولی سماق قادر به ایجاد اثرات باکتری‌کش در

غلظت‌های خاص هستند، در حالی‌که در غلظت‌های پایین‌تر ممکن است تنها رشد باکتری را مهار کنند (۱۷). این موضوع می‌تواند توجیه‌کننده‌ی مشاهده‌ی رفتار باکتری‌کش یا باکتریواستاتیک عصاره‌ی سماق در برابر گونه‌های مختلف باکتریایی در مطالعه‌ی حاضر باشد.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که استفاده از ترکیب عصاره‌های سماق و تره‌ی کوهی ایرانی موجب کاهش معنی‌دار مقادیر MIC نسبت به عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی به‌تنهایی شد، اما این ترکیب نتوانست فعالیت ضدمیکروبی بالاتری نسبت به سماق خالص ایجاد کند. نتایج مشابهی در پژوهش‌های اخیر گزارش شده است که نشان می‌دهد ترکیب عصاره‌های گیاهی الزاماً منجر به اثر تقویت‌کنندگی کامل نمی‌شود و در بسیاری از موارد، اثر ترکیبی صرفاً به‌صورت افزایشی و ناشی از تقویت عملکرد عصاره‌ی ضعیف‌تر ظاهر می‌گردد (۱۸). مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات فنولی سماق با اثر مستقیم بر دیواره‌ی سلولی و غشای باکتری، نقش غالب در فعالیت ضدمیکروبی ایفا می‌کنند، در حالی که ترکیبات گوگردی موجود در گونه‌های *Allium* بیشتر به‌عنوان عوامل کمکی عمل کرده و در حضور یک عصاره‌ی قوی‌تر، موجب افزایش کارایی کلی فرمولاسیون می‌شوند (۱۹،۲۰). از این‌رو، عدم برتری ترکیب عصاره‌ها نسبت به سماق به‌تنهایی در مطالعه‌ی حاضر می‌تواند ناشی از غالب بودن مکانیسم‌های اثر سماق و نبود تعامل هم‌افزایی واقعی بین ترکیبات فعال دو گیاه باشد.

در سال‌های اخیر، گونه‌های مختلف جنس *Allium* به‌دلیل دارا بودن ترکیبات گوگردی فعال، فلاونوئیدها و سایر متابولیت‌های ثانویه، به‌عنوان منابع طبیعی با پتانسیل ضدمیکروبی مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگرچه مطالعات اختصاصی بر روی *Allium iranicum* یا همان تره‌ی کوهی ایرانی نسبتاً محدود است، اما شواهد موجود نشان می‌دهد که عصاره‌های این گیاه قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا هستند، هرچند شدت اثر آن‌ها معمولاً کم‌تر از گیاهانی با محتوای پلی‌فنولی بالاتر گزارش شده است (۲۰،۲۱). گزارش شده است که ترکیبات گوگردی موجود در *Allium iranicum* می‌توانند با اختلال در نفوذپذیری غشای سلولی و مهار آنزیم‌های حیاتی باکتری، منجر به کاهش رشد یا مرگ سلولی شوند. اثر نسبتاً یکنواخت عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی بر باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی، که در مطالعه‌ی حاضر نیز مشاهده شد، در پژوهش‌های پیشین به نبود تمایز اختصاصی در مکانیسم اثر این ترکیبات نسبت داده شده است. از سوی دیگر، مطالعات نشان می‌دهند که عصاره‌های *Allium* در ترکیب با سایر عصاره‌های گیاهی می‌توانند نقش تقویت‌کننده داشته باشند و بیش‌تر موجب افزایش کارایی عصاره‌ی ضعیف‌تر شوند تا ایجاد هم‌افزایی کامل(۲۱)، که این موضوع با نتایج تیمار ترکیبی در پژوهش حاضر همخوانی دارد.

از منظر کاربردی، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که عصاره‌ی سماق می‌تواند به‌عنوان یک گزینه‌ی گیاهی بالقوه در برنامه‌های کنترل و مدیریت بیماری‌های باکتریایی در آبزی‌پروری مورد توجه قرار گیرد. اگرچه فعالیت ضدباکتریایی قوی عصاره‌ی سماق مشاهده شد، ولی با توجه به pH پایین این عصاره (۳.۵≈)، بخشی از این اثر می‌تواند ناشی از استرس اسیدی باشد. مطالعه‌ی حاضر فاقد کنترل‌های عملکردی لازم برای تفکیک سهم دقیق ترکیبات فنولی از اثر pH است. بنابراین، تفسیر نتایج مربوط به سماق باید با این احتیاط همراه باشد که احتمالاً مکانیسم اثر آن ترکیبی از فعالیت زیست‌فعال و شرایط اسیدی محیط است. مطالعات آینده با طراحی کنترل‌های مناسب (مانند خنثی‌سازی عصاره) می‌تواند سهم هر عامل را به‌طور کمی مشخص نماید. با توجه به ماهیت باز سیستم‌های پرورش ماهی و تماس مستقیم عوامل درمانی با محیط‌های آبی، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها همواره با نگرانی‌هایی از جمله گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و آلودگی زیست‌محیطی همراه بوده است (۲۲). در این چارچوب، بهره‌گیری از عصاره‌های گیاهی با منشأ طبیعی و سمیت بالقوه کم‌تر، می‌تواند رویکردی ایمن‌تر و پایدارتر برای کاهش بار باکتریایی و پیشگیری از بروز بیماری‌ها محسوب

شود (۲۳). قدرت ضدمیکروبی بالاتر عصاره‌ی سماق و پاسخ گونه‌وابسته باکتری‌ها به آن، امکان استفاده هدف‌مند از این عصاره را در مواجهه با پاتوژن‌های خاص آبزیان مطرح می‌کند، در حالی‌که عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی می‌تواند به‌عنوان یک عامل کمکی در فرمولاسیون‌های ترکیبی ایفای نقش نماید. با این حال، از آنجا که نتایج این مطالعه مبتنی بر آزمون‌های برون‌تنی (in vitro) است، تعمیم آن‌ها به شرایط واقعی پرورش ماهی با محدودیت‌هایی همراه است. ازاین‌رو، انجام مطالعات درون‌تنی (in vivo) به‌منظور ارزیابی اثربخشی واقعی، ایمنی زیستی، دُز مناسب و پایداری عصاره‌های سماق و تره‌ی کوهی ایرانی در شرایط پرورشی ضروری به‌نظر می‌رسد. در واقع با وجود نتایج امیدوارکننده در آزمون‌های برون‌تنی، هرگونه کاربرد عملی عصاره‌ها باید با احتیاط انجام شود و مستلزم مطالعات in vivo و ارزیابی دقیق سمیّت است. بنابراین، یافته‌های حاضر صرفاً نشان‌دهنده پتانسیل ضدباکتریایی عصاره‌ها در شرایط آزمایشگاهی هستند و تأیید اثرات واقعی آن‌ها در سیستم‌های زیستی نیازمند بررسی‌های بیشتر است. علاوه‌بر این، عدم شناسایی و کمی‌سازی دقیق ترکیبات فعال مسئول فعالیت ضدمیکروبی، می‌تواند تفسیر کامل مکانیسم‌های اثر مشاهده‌شده را با محدودیت مواجه سازد. تمامی آزمون‌های MIC و MBC در این مطالعه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد که دمای استاندارد آزمایشگاهی برای سویه‌های مورد بررسی است. با این حال، در شرایط واقعی پرورش آبزیان، رشد این باکتری‌ها ممکن است در دماهای پایین‌تر (۲۵°C–۳۰) متفاوت باشد و اثر عصاره‌ها نیز ممکن است کمی تغییر کند؛ بنابراین نتایج باید با احتیاط در شرایط پرورشی تفسیر شوند. لازم به ذکر است که سویه‌های *لاکتوکوکوس گارویه* و *استرپتوکوکوس اینیه* در این مطالعه بر روی محیط Nutrient Broth کشت داده شدند، که در آزمایشگاه ما رشد پایدار و قابل قبولی برای سویه‌های مورد استفاده فراهم می‌کند. با این‌حال، مطابق دستورالعمل CLSI، برای تعیین MIC و MBC معمولاً توصیه به استفاده از Mueller–Hinton Broth با تعدیل خاص می‌شود. بنابراین، نتایج MIC و MBC گزارش شده باید با احتیاط تفسیر شوند و مقایسه مستقیم آن‌ها با سایر مطالعات محدودیت دارد. علاوه‌بر انتخاب محیط Nutrient Broth، بار تلقیح مورد استفاده در آزمون MIC کمی بالاتر از مقدار استاندارد CLSI بود. این موضوع می‌تواند منجر به افزایش مقادیر MIC مشاهده‌شده شود و مقایسه‌ی مستقیم با سایر مطالعات که از غلظت توصیه‌شده CLSI استفاده کرده‌اند را محدود سازد. بنابراین، نتایج باید با احتیاط تفسیر شده و تاکید می‌شود که هدفِ مطالعه، مقایسه‌ی نسبی اثر عصاره‌ها در شرایط آزمایشگاهی مشابه بوده است.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی آبی سماق از پتانسیل ضدمیکروبی بالاتری نسبت به عصاره‌ی تره‌ی کوهی ایرانی علیه باکتری‌های بیماری‌زای مهم آبزیان برخوردار است و می‌تواند به‌عنوان یک عامل گیاهی مؤثر در مهار رشد این باکتری‌ها مطرح شود. همچنین، اگرچه استفاده از ترکیب عصاره‌های سماق و تره‌ی کوهی ایرانی موجب بهبود فعالیت ضدمیکروبی تره‌ی کوهی ایرانی شد، این ترکیب نتوانست اثر قوی‌تری نسبت به عصاره‌ی سماق به‌تنهایی ایجاد کند. به‌طور کلی، یافته‌های حاضر نشان‌دهنده‌ی پتانسیل عصاره‌ی سماق به‌عنوان یک گزینه طبیعی و امیدوارکننده در راهبردهای جایگزین یا مکمل آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل بیماری‌های باکتریایی آبزیان است، با این حال تأیید کاربرد عملی آن مستلزم انجام مطالعات تکمیلی در شرایط in vivo و ارزیابی دقیق سمیّت می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان بدین‌وسیله مراتب قدردانی و تشکر صمیمانه خود را از کلیه همکاران محترم دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل اعلام می‌دارند. همچنین از سرکار خانم فاطمه مهدوی به‌طور ویژه، به‌سبب همکاری ارزشمند و کمک‌های مؤثر ایشان در انجام امور آزمایشگاهی این پژوهش، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

References

1- Stentiford GD, Sritunyalucksana K, Flegel TW, Williams BA, Withyachumnarnkul B, Itsathitphaisarn O, *et al.* New paradigms to help solve the global aquaculture disease crisis. PLoS pathogens. 2017;13(2):e1006160.

2- Gundi VA, Bogireddy D, Vundru AK, Arthala PK, Vadela MB, Karri S *et al*. Antimicrobial use, residues and resistance in fish production in Africa: systematic review and meta-analysis. BMC Veterinary Research. 2024;20(1):307.

3- Iqbal T, Salma U, Umair M, Iqbal H, Khalid T, Hyder S. Utilizing Medicinal Plants for Disease Treatment in Aquaculture: An Approach to Improve Fish Health: Medicinal Plants in Aquaculture. MARKHOR (The Journal of Zoology). 2024:03-10.

4- Martins R, Barbosa A, Advinha B, Sales H, Pontes R, Nunes J. Green extraction techniques of bioactive compounds: a state-of-the-art review. Processes. 2023;11(8):2255.

5- Dadazadeh A, Azadmard-Damirchi S, Piravi-Vanak Z, Torbati M, Martinez F. Extraction of Oil from *Allium iranicum* Seed and Evaluation of Its Composition and Quality Characteristics. Foods. 2025;14(9):1483.

6- Perrone A, Yousefi S, Basile B, Corrado G, Giovino A, Salami SA *et al*. Phytochemical, antioxidant, anti-microbial, and pharmaceutical properties of sumac (*Rhus coriaria* L.) and its genetic diversity. Horticulturae. 2022;8(12):1168.

7- Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2020;12(1):1-0.

8- Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal of antimicrobial Chemotherapy. 2001;48(suppl_1):5-16.

9- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 12th Edition, CLSI Standard M07. 2018.

10- Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of pharmaceutical analysis. 2016;6(2):71-9.

11- Sakhr K, El Khatib S. Physiochemical properties and medicinal, nutritional and industrial applications of *Lebanese Sumac* (Syrian Sumac-*Rhus coriaria*): A review. Heliyon. 2020;6(1).

12- Mahdavi S, Hesami B, Sharafi Y. Antimicrobial and antioxidant activities of Iranian sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit ethanolic extract. J. Appl. Microbiol. Biochem. 2018;2(5):2576-1412.

13- Shahrivari S, Zeebaree SM, Alizadeh-Salteh S, Feizy HS, Morshedloo MR. Phytochemical variations antioxidant, and antibacterial activities among zebaria sumac (*Rhus coriaria* var. zebaria) populations in Iraq. Scientific Reports. 2024;14(1):4818.

14- Al-Hayanni HS. The antibacterial and antibiofilm effects of Sumac (*Rhus coriaria* L) fruits extracts against some multidrug-resistant pathogenic bacteria. Journal of the Faculty of Medicine Baghdad. 2022;64(3):183-8.

15- Rashid TS, Awla HK. Bioactive constituents in *Rhus coriaria* L. fruit extract and their antibacterial activity against *Xanthomonas vesicatoria*. European Journal of Plant Pathology. 2024;170(4):1013-21.

16- Mojaddar LA, Tajik H, Mehdizadeh T. Antibacterial and antioxidant characteristics of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* L. Journal of Food Quality and Hazards Control. 2019;6:16-24.

17- El-Sakhawy MA. Combinational Effect of Selected Medicinal Plants and Antibiotics Against Pathogenic Bacteria. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS. 2023;26(3):108-18.

18- Öz M, Baltacı C, Fidan MS, Karataş ŞM. Antimicrobial, antioxidant, and phytochemical activities of *Rhus coriaria* L. and its phenolic compounds and volatile component analyses. BioResources. 2023;18(4):6842-61.

19- Mohammed LJ, Chehri K, Karimi I, Karimi N. Computational insight into the protective mechanism of *Allium iranicum* Wendelbo. Alliaceae in a mouse model of Staphylococcosis: focus on dietary phytocannabinoid trans-caryophyllene. In Silico Pharmacology. 2021 Feb 7;9(1):17.

20- Fredotović Ž, Puizina J. Edible *Allium* species: Chemical composition, biological activity and health effects. Italian Journal of Food Science. 2019;31(1):19-39.

21- Mohammed EA, Kovács B, Kuunya R, Mustafa EO, Abbo AS, Pál K. Antibiotic Resistance in Aquaculture: Challenges, Trends Analysis, and Alternative Approaches. Antibiotics. 2025;14(6):598.

22- Elgendy MY, Ali SE, Dayem AA, Khalil RH, Moustafa MM, Abdelsalam M. Alternative therapies recently applied in controlling farmed fish diseases: mechanisms, challenges, and prospects. Aquaculture International. 2024;32(7):9017-78.

New Findings in Veterinary Microbiology
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Quarterly - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 9, Issue 1, Spring 2026, pages: 49-62

Evaluation of the antimicrobial activity of water extracts of Iranian leek (*Allium iranicum*) and sumac (*Rhus coriaria* L.) on aquatic pathogenic bacteria

Rahem Khoshbakht[1*], Mahdi Moradi[2], Sepideh Gholami Sefidkouhi[2], Poulin Shohreh[3]

1. Associate professor, Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special ModernTechnologies, Amol, Iran.
2. Bachelor of Science in Laboratory Sciences, Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special ModernTechnologies, Amol, Iran.
3. Associate professor, Department of clinical sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special ModernTechnologies, Amol, Iran.

Corresponding author: **Rahem Khoshbakht**
DVM, Ph.D in Bacteriology
Email: khoshbakht.r@gmail.com r.khoshbakht@ausmt.ac.ir
Tel: +989113919059

Receive: December 29, 2025; Revise: February 06, 2026; Accept: June 02, 2026

10.22034/nfvm.2026.569070.1310

Abstract

Bacterial diseases are among the most significant challenges in the aquaculture, and the widespread use of antibiotics to control infections has led to the drug resistance. So, the search for natural and safe alternatives, such as plant extracts, is essential. The aim of the present study was to evaluate the antibacterial activity of the aqueous extract of sumac (*Rhus coriaria*) and Iranian mountain leek (*Allium iranicum*), as well as to investigate the effect of their combination against three important aquatic pathogens: *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, and *Aeromonas hydrophila*. Aqueous plant extracts were prepared using the cold maceration method (1:20 w/v ratio, 48 hours; dry extract yield: sumac ~10%, Iranian mountain leek ~7%). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) assays were performed using the broth microdilution method in Nutrient Broth, following CLSI protocols (with modifications for compatibility). The results were analyzed using SPSS software. The results showed that sumac extract had stronger antibacterial activity compared to the Iranian mountain leek extract and exhibited the lowest MIC values, particularly against *S. iniae*. The combination of the extracts improved the antimicrobial activity of the Iranian mountain leek but did not surpass the effect of sumac extract alone. Analysis of the MBC/MIC ratio indicated that most treatments had a bactericidal effect, although sumac extract showed a bacteriostatic effect against Gram-positive bacteria. In general, the results of this study demonstrate that sumac and its combination with Iranian mountain leek can be considered as promising natural alternatives for controlling bacterial infections in aquaculture.

Keywords: *Antibacterial activity, Rhus coriaria, Allium iranicum, Fish bacterial diseases.*