

تأثیرات ضد باکتریایی عصاره‌های سیر (*Allium sativum*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) جداسازی شده از تاسماهیان پرورشی

مهدی معصوم زاده^{۱*}، مصطفی شریف روحانی^۲، علیرضا شناور ماسوله^۱

مهدی علیزاده^۱، جلیل جلیل پور^۱، سهیل بازاری مقدم^۱

۱- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹-۱۴۹۶۵

تاریخ پذیرش: ۱۶ آذر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۲۹ تیر ۱۳۹۵

چکیده

تأثیرات سوء بکارگیری آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد عفونی‌کننده شیمیایی خصوصاً ایجاد مقاومت‌های دارویی در آبزیان پرورشی سبب گردیده تا بررسی امکان جایگزینی مواد مذکور با موادی با منشأ طبیعی مانند گیاهان دارویی از مهم‌ترین اولویت‌های تحقیقاتی محققین بهداشت و بیماری‌های آبزیان قرار گیرد. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره‌های سیر *Allium sativum* و آویشن شیرازی *Zataria multiflora* بر باکتری آئروموناس هیدروفیلا *Aeromonas hydrophila* صورت پذیرفت. در این مطالعه پس از تهیه عصاره‌های هیدروالکلی سیر و آویشن شیرازی به روش پرکولاسیون (percolation) اثرات ضد میکروبی آن‌ها روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا به روش *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) بر اساس روش رقت لوله‌ای در محیط کشت مولر هینتون براث (Mueller Hinton Broth) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) در پلیت‌های محتوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Mueller Hinton Agar) توسط عصاره‌های هیدروالکلی سیر و آویشن شیرازی تعیین گردید. بر اساس نتایج حاصل حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا (MIC) عصاره‌های هیدروالکلی آویشن شیرازی و سیر به ترتیب برابر ۰/۲۵ و ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره‌های هیدروالکلی آویشن شیرازی و سیر به ترتیب برابر ۰/۵ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید و مشخص شد عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی دارای اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری نسبت به عصاره هیدروالکلی سیر می‌باشد.

کلمات کلیدی: آویشن شیرازی، سیر، آئروموناس هیدروفیلا، MIC، MBC.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). masomzadeh50@yahoo.com

مقدمه

باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) به عنوان جزئی از فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهیان می تواند در طی مراحل مختلف پرورش موجب سپتی سمی هموراژیک گردد (Aoki, 1999). مطالعات انجام شده در خصوص بیماری زایی باکتری آئروموناس هیدروفیلا نشان می دهد که بر اساس شدت آلودگی و سن ماهیان پرورشی مبتلا به آئرومونازیس علائم بالینی متفاوت و حتی بروز تلفات قابل انتظار می باشد (Razavilar *et al.*, 1981; and Peighan, 1997; Esmaeli؛ شناور و همکاران، ۱۳۸۲ و ۱۳۸۸).

تأثیرات سوء زیست محیطی مواد شیمیایی ضد عفونی کننده و آنتی بیوتیک ها و نیز اثرات منفی آن ها بر مصرف کنندگان ماهیان تحت درمان مانند ایجاد مقاومت دارویی در برابر عوامل باکتریایی لزوم بررسی جایگزین های طبیعی مانند گیاهان دارویی را بیش از پیش ضروری نموده است (Yao *et al.*, 2011).

آویشن شیرازی با نام علمی *Zatarai multiflora* و سیر با نام علمی *Allium sativum* از شناخته شده ترین گیاهان دارویی در طب سنتی می باشند که تأثیرات مختلف این گیاهان از جمله خواص ضد باکتریایی آن ها در مطالعات متعددی گزارش شده است. محسن زاده و همکاران در سال ۱۳۸۲ طی بررسی خواص ضدباکتریایی تعدادی از گیاهان دارویی کشور بیان نمودند که اسانس آویشن بیشترین اثر ضد باکتریایی را روی برخی از باکتری داشته است. در ارتباط با تأثیرات فرآورده های مختلف گیاه آویشن شیرازی بر روی عوامل بیماری زا در آبزیان چندین مطالعه در کشور صورت پذیرفته است. شریف روحانی در سال ۱۳۸۳ تأثیرات تعدادی اسانس گیاهی از جمله

آویشن شیرازی را در کنترل آلودگی های قارچی تخم قزل آلا به روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی MIC بررسی نمود. علیشاهی و همکاران در سال ۱۳۸۹ اثرات ضدباکتریایی عصاره آویشن را به همراه برخی عصاره های گیاهی بررسی نمودند.

بر اساس مطالعات انجام شده مهم ترین ترکیب سیر آلیسین (Allicin) می باشد که قابلیت ضد میکروبی آن بر باکتری ها، ویروس ها، کپک ها، مخمرها و ارگانیسم های دیگر به اثبات رسیده است (Harris *et al.*, 2001). مطالعات متعددی در ارتباط با خواص ضد میکروبی سیر تازه و عصاره خشک شده سیر بصورت پودر بر ضد باکتری های بیماری زای مختلف و نیز اثر آن بر بیماری های قارچی (Adetumbi *et al.*, 1986) و ویروس های بیماری زا انجام شده است (Weber *et al.*, 1992).

Han و همکاران در سال ۱۹۹۵ اعلام کردند که خواص آنتی بیوتیکی یک میلی گرم آلیسین، معادل ۱۵ IU پنی سیلین می باشد. Hussein و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داند که گیاه سیر دارای اثرات ضدباکتریایی قوی بر علیه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی *Streptococcus iniae* و گونه های آئروموناس *Aeromonas sp.* در ماهی نیل تیلاپیا *Oreochromis niloticus* می باشد. با توجه به تأثیرات ضد باکتریایی گزارش شده از فرآورده های سیر و آویشن شیرازی در این مطالعه تأثیر عصاره های این دو گیاه بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا جداسازی شده از ماهیان خاویاری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی

عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی مورد استفاده در این تحقیق به روش پرکولاسیون (percolation) در شرکت کشت و صنعت و فرآوری گیاهان دارویی سها جیسا (تهران، ایران) با استفاده از اتانول ۵۵ درجه و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تهیه و پس از خاتمه عصاره‌گیری و فیلتراسیون (Filtration)، عصاره‌های حاصله پاستوریزه گردیدند (Su et al., 2007). بر اساس نتایج آنالیز (GCmass) عصاره‌های مورد استفاده در این مطالعه، ماده مؤثره عصاره آویشن شیرازی تیمول و مقدار آن برابر ۱۱۱/۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر و ماده مؤثره عصاره سیر آلیسین و مقدار آن برابر ۱۰۸/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بوده است.

تهیه باکتری آئروموناس هیدروفیلا

به منظور انجام مطالعات مورد نظر در این تحقیق از باکتری آئروموناس هیدروفیلا جداسازی شده از ماهیان خاویاری پرورشی در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر که با انجام آزمایشات بیوشیمیایی و مولکولی جنس و گونه آن تأیید و با کد JX987090 در Gen Bank ثبت گردیده بود استفاده شد (NSBI, 2013). باکتری ابتدا در محیط کشت مایع Tryptic Soy Broth (TSB) کشت و بعد از ۲۴ ساعت در مرحله رشد لگاریتمی باکتری، محیط کشت در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و باکتری رسوب کرده سه بار با سرم فیزیولوژی شستشو و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای انجام مطالعات مورد نظر نگهداری گردید.

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از

رشد Minimum Inhibitory Concentration

(MIC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط

عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی

در این بررسی به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا (MIC) توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی از روش رقت لوله‌ای (Vanden et al., 1991; Sindambiwe et al., 1999) استفاده گردید. در این روش برای تعیین MIC هر یک از عصاره‌های مورد بررسی یک سری ۱۰ تایی از لوله‌های آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف عصاره و یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله نیز به عنوان کنترل منفی بکار رفت. ابتدا باکتری آئروموناس هیدروفیلا که در محیط Tryptic Soy Broth (TSB) کشت داده شده بود در شرایط استریل به محیط کشت مولر هینتون براث (Mueller Hinton Broth) در لوله‌های آزمایش اضافه و میزان کدورت حاصل از باکتری با استاندارد ۰/۵ مک فارلند ($10^8 \times 1/5$ cfu/ml) تنظیم گردید سپس به لوله‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون براث همراه با باکتری آئروموناس هیدروفیلا عصاره سیر و آویشن شیرازی با غلظت‌های ۰/۳۲، ۰/۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اضافه شد. سپس لوله‌های مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباسیون نگهداری و بعد از سپری شدن زمان فوق کدورت آن‌ها بررسی و غلظت اولین لوله‌ای که در مقایسه با شاهد شفاف بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی Minimum Bactericidal Concentration (MBC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی از محتویات آن دسته از غلظت‌هایی از عصاره‌های مذکور که در محیط کشت مولر هینتون برات در آزمایش تعیین MIC فاقد کدورت بودند، به میزان ۱ میلی‌لیتر برداشت و در پلیت‌های محتوی مولر هینتون آگار (Mueller Hinton Agar) به روش خطی کشت داده شد سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند، پس از اتمام مدت زمان انکوباسیون کم‌ترین غلظتی از عصاره‌های مورد بررسی را که باکتری آئروموناس هیدروفیلا در آنها رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد (Vanden et al., 1991; Sindambiwe et al., 1999).

نتایج

در این مطالعه تاثیرات ضد باکتریایی عصاره‌های هیدروالکلی سیر و آویشن شیرازی به روش *in vitro*

مورد بررسی قرار گرفت. بررسی کدورت و شفافیت لوله‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی نشان داد حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا (MIC) توسط عصاره‌های آویشن شیرازی و سیر به ترتیب برابر ۰/۲۵ و ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۱). بر اساس نتایج مذکور عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در غلظت پایین‌تری نسبت به عصاره هیدروالکلی سیر می‌تواند از رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا در محیط کشت مولر هینتون برات ممانعت نماید. همچنین بررسی وضعیت رشد باکتری آئروموناس هیدروفیلا در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار در غلظت‌های مختلف عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی نشان داد حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های آویشن شیرازی و سیر به ترتیب برابر ۰/۵ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۲). بر اساس نتایج مذکور عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در غلظت پایین‌تری نسبت به عصاره هیدروالکلی سیر می‌تواند منجر به نابودی باکتری آئروموناس هیدروفیلا گردد.

جدول ۱: مقایسه حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد (MIC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی

غلظت عصاره mg/ml	۰/۳۲	۰/۶۳	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲	۴	۸	C ⁻	C ⁺
آویشن شیرازی	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
MIC											
سیر	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
MIC											

جدول ۲: مقایسه حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی						
غلظت عصاره mg/ml	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲	۴	۸
آویشن شیرازی	+	-	-	-	-	-
MBC						
عصاره سیر			+	-	-	-
MBC						
(+) رشد باکتری در محیط کشت			(-) عدم رشد باکتری در محیط کشت			



شکل ۲: نتایج آزمایشات تعیین حداقل غلظت کشندگی کنندگی (MBC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی



شکل ۱: نتایج آزمایشات تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی

بحث

در این تحقیق حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های هیدروالکلی سیر و آویشن شیرازی به ترتیب برابر ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. همچنین مقادیر حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های هیدروالکلی سیر و آویشن شیرازی به ترتیب برابر ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. بررسی و مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج سایر مطالعات صورت گرفته در ارتباط با گیاهان دارویی نشان می‌دهد عصاره‌های مورد

بررسی در این مطالعه خصوصاً عصاره آویشن شیرازی دارای تأثیرات مهارکنندگی رشد (Bacteriostatic) و باکتری کشی (Bactericidal) مناسبی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا می‌باشند. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره آویشن شیرازی حاصل از این مطالعه با نتایج بررسی تأثیر عصاره ۹ گیاه دارویی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا که توسط علیشاهی و همکاران (۱۳۸۹) انجام پذیرفت مشابه می‌باشد. همچنین مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج بررسی قدرت ضد باکتری عصاره متانولی آویشن شیرازی بر روی باکتری لاکتوکوکوس گاریوسه *Lactococcus*

garvieae (کوهپایه و همکاران، ۱۳۸۸) و نیز بررسی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن شیرازی بر روی باکتری اشرشیاکولی انتروهموژایک *Enterohemorrhagic E. coli* (گودرزی و همکاران، ۱۳۸۵) مطابقت دارد. مقایسه اثرات ضدباکتریایی عصاره آویشن با آنتی‌بیوتیک فورازولیدون نشان می‌دهد اگرچه فورازولیدون از قدرت مهارکنندگی رشد و باکتری‌کشی قوی‌تری نسبت به عصاره آویشن برخوردار می‌باشد اما با توجه به تأثیرات نسبتاً مناسب این عصاره می‌توان از آن به عنوان جایگزین گیاهی مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها بویژه آنتی‌بیوتیک‌هایی که باکتری‌ها نسبت به آن‌ها مقاومت یافته‌اند استفاده نمود (علیشاهی و همکاران، ۱۳۸۹).

در ارتباط با تأثیرات ضد باکتریایی عصاره سیر بر روی عوامل بیماری‌زا مطالعات متعددی در داخل و خارج از کشور صورت پذیرفته است. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه و نیز سایر مطالعات صورت گرفته عصاره سیر از تأثیرات ضد باکتریایی کمتری نسبت به برخی از گیاهان دارویی برخوردار بوده و بیشتر دارای تأثیرات ضد انگلی بویژه بروی انگل‌های خارجی ماهی می‌باشد (Barker, 2005; Chiamanat et al., 2005; Soko and Bartolome et al., 2007) و بازاری مقدم و همکاران، ۱۳۹۲).

بر اساس نتایج آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده گیاه آویشن، تیمول (Thymol) و کارواکرو (Carvacrol) دو ماده اصلی تشکیل دهنده این گیاه می‌باشند که بر اساس نتایج تحقیقات صورت گرفته اثرات ضدباکتریایی گیاه آویشن را بیشتر به ترکیبات تیمول و کارواکرو مرتبط می‌دانند. همچنین بر اساس مطالعات صورت گرفته تیمول و کارواکرو دارای اثرات

سینرژیستی (synergist) می‌باشند (Didry et al., 1994). همچنین نتایج آنالیز سیر نشان می‌دهد آلیسین مهم‌ترین ترکیب موجود در این گیاه بوده و اثرات ضد میکروبی سیر را مربوط به آلیسین می‌دانند بطوریکه Han و همکاران در سال ۱۹۹۵ اعلام کردند که خواص آنتی‌بیوتیکی یک میلی گرم آلیسین، معادل ۱۵ IU پنی سیلین می‌باشد. با توجه به نتایج تعیین مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری آئروموناس هیدروفیلا توسط عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی در این مطالعه و نوع ترکیبات ضدباکتریایی آن‌ها می‌توان نتیجه گرفت ترکیبات تیمول و کارواکرو موجود در آویشن شیرازی نسبت به آلیسین موجود در گیاه سیر از تأثیرات ضدباکتریایی قوی‌تری برخوردار می‌باشند. با توجه نتایج حاصل از این بررسی و نیز سایر مطالعات انجام شده تولید داروهای مؤثر در کنترل و درمان آئرومونازیس در ماهیان پرورشی می‌تواند مورد توجه محققین بهداشت و بیماری‌های آبریان قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مساعدت و همکاری‌های آقایان دکتر محمد علی یزدانی و دکتر شهرام عبدالملکی ریاست و معاونت محترم پژوهشی موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر و نیز از کلیه همکاران محترم که در مراحل انجام این مطالعه ما را یاری نمودند صمیمانه قدردانی به عمل می‌آید. این مقاله در ارتباط با بخشی از نتایج پروژه «بررسی تأثیر عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا در بچه تاسماهی ایرانی» با کد مصوب ۸۹۱۵۴-۸۹۱۳-۱۲-۸۶-

همایش ملی بیماری‌های اقتصادی صنعت پرورش قزل
آلای رنگین کمان، کتابچه خلاصه مقالات، صفحه
۴۰.

۶. گودرزی، م.، ستاری، م.، نجارپیرایه، ش.، بیگدلی،
محسن. ۱۳۸۵. بررسی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی
گیاه آویشن شیرازی بر روی اشرشیاکولی
انتروهموژیک. مجله علمی پژوهشی یافته، دانشگاه
علوم پزشکی لرستان، ۸(۳)، ۷۰-۶۳.
۷. محسن زاده، م.، گرگان زاده، آ.، رضائیان دلوثی، ر.،
قزوینی، ک.، ۱۳۸۲. بررسی خواص ضد باکتریایی
غلظت‌های مختلف اسانس تعدادی از گیاهان دارویی
ایران. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره دامپزشکی
ایران، صفحه ۳۳۳.

8. Adetumbi, M., Javor, G.T., Lau, B.H.S., 1986. *Allium sativum* (garlic). Inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents, Chemother*, 30, 499-501.
9. Aoki, T., 1999. Motile *Aeromonads* (*Aeromonas hydrophila*). In: *Fish Diseases and Disorders*. Edited by PTK Woo and D.W Bruno, CABI Publishing, 427-453.
10. Bartolome, R., Ella, R.L., Garcia, A., Magboo, M.L., Donne, R., 2007. Addition of Crude Methanolic *Allium sativum* (Garlic) extracts to commercial fish feed can potentially prevent or delay Ichthyophthiriasis in the Black Molly (*Poecilia sphenops*). *ActaManilana*, 55, 37-42.
11. Chitamanat, C., Tongdonmuan, K., Nunsong, W., 2005. The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Journal of Science Technology*, 27.
12. Didry, N., Dubreuil, L., Pinkas, M., 1994. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacterial. *Pharm. Acta. Helv.*, 69, 25-8.
13. Esmaeli, F., Peighan, R., 1997. Infection of grass carp with the motile *Aeromonas*-like bacteria. *Iranian Sci. Fish. J.* 6.
14. Han, J., Lawson, L., Han, G., Han, P., 1995. A spectrophotometric method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulfinates. *Anal. Biochem*, 225, 157-160.
15. Harris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S., Liroyd, D., 2001. Antimicrobial properties of *Allium*

۱۴ بوده که با حمایت مالی موسسه تحقیقات علوم
شیلاتی کشور به انجام رسیده است.

منابع

۱. بازاری مقدم، س.، شریف روحانی، م.، شریف پور،
ع.، حقیقی، ع.، مهربانی، م.، معصوم زاده، م.، جلیل
پور، ج.، علیزاده، م.، شناور ماسوله، ع.، پژند، ذ.،
پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، صادقی، م.، یزدانی، م.،
پور علی، ح.، ۱۳۹۲. گزارش نهایی پروژه بررسی تأثیر
عصاره‌های سیر و آویشن شیرازی در کنترل انگل‌های
خارجی بچه تاسماهی ایرانی، رشت، موسسه تحقیقات
شیلات ایران، ۱۴۴ صفحه.
۲. شناور ماسوله، ع.، پورکاظمی، م.، ستاری، م.،
جلیل پور، ج.، معصوم زاده، م.، ۱۳۸۲. گزارش نهایی
پروژه بررسی کمی و کیفی بچه ماهیان خاویاری،
موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۹۶ صفحه.
۳. شناور ماسوله، ع.، سعیدی، ع.، رستمی، ح.،
پورکاظمی، م.، بازاری مقدم، س.، جلیل پور، ج.،
معصوم زاده، م.، علیزاده، م.، پوردهقان، م.، کاظمی،
ر.، صادقی راد، م.، حقیقی، س.، ۱۳۸۸. گزارش نهایی
طرح ملی بررسی وضعیت بهداشتی مراکز تکثیر و
پرورش ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات شیلات
ایران، ۳۹۰ صفحه.
۴. علیشاهی، م.، حیدری، م.، پشم فروش، م.، نجف زاده،
ح.، ۱۳۸۹. مطالعه اثرات ضد باکتریایی برخی
عصاره‌های گیاهی علیه استرپتوکوکوس اینیانی،
یرسینیا راکری و آنروموناس هیدروفیلا. مجله
دامپزشکی ایران، ۶(۲).
۵. کوهپایه، ع.، مزدگانلو، ز.، انصاری، م.، عزتخواه، م.،
۱۳۸۸. بررسی اثر عصاره متانولی گیاهان دارویی
آویشن شیرازی و اوکالیتوس بر روی باکتری
لاکتوکوکوس گارویه در شرایط آزمایشگاهی. اولین

20. Su, L., Yin, J.J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., Yu, L., 2007. Total phenolic contents chelating capacities and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry 100.
21. Vanden, D.A., Vlietinck, A.J., 1991. In: Dey PM, Harborne JB. (Eds.), Methods in plant biochemistry: screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. London, Academic Press, 47-69.
22. Weber, N.D., Anderson, D.O., North, J.A., Murray, B.K., Lawson, L.D., Hughes, B.G., 1992. In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. Planta Med. 58, 417-23.
23. Yao, J.Y., Shen, J.Y., Li, X.L., Xu, Y., Hao, G.J., Pan, X.Y., Wang, G.X., Yin, W.L., 2011. Isolation of bioactive components from *Chelidonium majus* L. with activity against *Trichodina* sp. Aquaculture Journal. 318, 235-238.
- sativum* (garlic). Applied Microbiology and Biotechnology, 57(3), 282-286.
16. Hussein, M.M.A., Hamdy Hassan, W., Ibrahim Moussa, M., 2013. Potential use of allicin (garlic, *Allium sativum* Linn, essential oil) against fish pathogenic bacteria and its safety for monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Food Agriculture and Environment, 11(1), 696 - 699.
17. Razavilar, V., Hasani, A., Azari-Takami, Gh., 1981. The role of *Aeromonas hydrophila* in some fish diseases. J. Vet. Med. Univ. Tehran, 27, 21-33.
18. Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Tote, J., Pieters, L., Vlietinck, A., 1999. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. J Ethnopharmacol, 65(1), 71-77.
19. Soko, C.K., Barker, D.E., 2005. Efficacy of crushed garlic and lemon juice as bio-product treatments for *Ichthyophthirius multifiliis* ('ich') infections among cultured, juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aqua Assoc Can Spec Pub 9, 108-110.