

تاثیر فعالیت ضدباکتریایی عصاره جفت میوه بلوط (*Quercus brantii* var. *persica*) بر رشد لاکتوکوکوس گارویه (*Lactococcus garvieae*) در شرایط آزمایشگاهی

- **صبا حسینی:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: 669
- **مهدی سلطانی*:** گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، صندوق پستی: 14155-6453
- **محسن حیدری:** گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، صندوق پستی: 14155-6453
- **مهرنوش مسعودی:** گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، صندوق پستی: 669
- **الهام پورمعافی اصفهانی:** دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات واحد بزد، صندوق پستی: 3995

تاریخ دریافت: اردیبهشت 1394 تاریخ پذیرش: شهریور 1394

چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر عصاره جفت میوه بلوط (لایه داخلی میوه بلوط) بر رشد *Lactococcus garvieae* در شرایط آزمایشگاهی بود. عصاره اتانولی و آبی جفت میوه بلوط به روش خیساندن تهیه و خواص ضدباکتریایی آن به روش‌های دیسک دیفیوژن و چاهک انجام شد. در روش دیسک دیفیوژن عصاره اتانولی با قطری معادل $7/72 \pm 0/64$ میلی‌متر فعالیت ضدباکتریایی بهتری از خود نشان داد. عصاره آبی جفت میوه بلوط در روش چاهک با میانگین قطر هاله عدم رشدی برابر با $7/12 \pm 0/83$ میلی‌متر ایجاد کرد. مقادیر حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی برای عصاره‌های اتانولی و آبی به ترتیب برابر با $0/75$ و $1/5$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. اختلاف معنی‌داری بین فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های جفت میوه بلوط (آبی و هیدروالکلی) با آنتی-بیوتیک‌های اریترومايسين، آمپیسيلين و کلرامفنیکل وجود داشت ($P < 0/05$). به‌طور کلی بیش‌ترین فعالیت ضدباکتریایی به ترتیب توسط عصاره هیدرو الکلی و سپس عصاره آبی به دست آمد.

کلمات کلیدی: ضدباکتریایی، میوه بلوط، عصاره اتانولی، لاکتوکوکوس گارویه

مقدمه

پاتوژن‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها بشر را ناگزیر به جایگزین کردن آنتی‌بیوتیک‌های قدیمی با آنتی-بیوتیک‌های جدید نموده است (Smith و همکاران، 1994). از این رو تحقیقات در رابطه با عوامل ضد میکروبی جدید که به‌طور طبیعی تولید می‌شوند، برای دستیابی به منابع نوین دارویی از اهمیت فراوانی برخوردار است (Okeke و همکاران، 2005؛ Gonzalez و همکاران، 2001).

مطالعات انجام شده در ایران نمایانگر گسترش استرپتو کوکوزیس در مزارع پرورش قزل‌آلاست (Soltani و همکاران، 2009؛ Soltani و همکاران،

عفونت‌های باکتریایی باعث بالاترین نرخ مرگ و میر در میان جوامع انسانی و موجودات با قابلیت آبی‌پروری می‌شوند (Kandhasamy و Arunachalam، 2008). امروزه به دلیل عفونت‌های سنگین باکتریایی و استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌های بیماری‌زا تبدیل به گونه‌های مقاوم شده‌اند (Lavanya و Veerappan، 2011). درمان پاتوژن‌های مقاوم، تبدیل به یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در صنعت آبی‌پروری شده است (Sieradzki و همکاران، 1999). کاهش بازده آنتی-بیوتیک‌ها و افزایش مقاومت



های غذایی صورت گیرد (Norhana و همکاران، 2012). محمودی (1391) تأثیر اسانس آویشن شیرازی در مدل غذایی روی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای مهار لاکتوکوکوس گارویه در یک دوره 9 روزه را مورد مطالعه قرار داد و اثرگذاری این گیاه را در تمامی غلظت‌ها مورد تأیید قرار گرفت. Mahmoodi و همکاران (2013) در مطالعه خود عصاره و اسانس 4 گیاه (*Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora* *Anethum graveolens*, *Eucalyptus globulus*) را علیه باکتری لاکتوکوکوس گارویه مطالعه کردند. فریدونی و همکاران (2013) نیز در مطالعه خود اثر ضدباکتریایی 8 گونه گیاه بومی ایران را علیه باکتری لاکتوکوکوس گارویه در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند. مقیمی و همکاران (1392) رفتار رشد تعداد مشخصی از جدایه‌های باکتری-های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه، در غلظت‌های 20، 40، 80، 160 و 320 میکرولیتر بر میلی‌لیتر، از اسانس‌های اوکالیپتوس کامالدولنسیس، پونه معطر و آلوئه ورا و غلظت‌های 0/05، 0/12، 1/5 و 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از داروی کلرآمین T در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و نیز حداقل غلظت مهارکنندگی آن‌ها مشخص کردند. سلطانی و همکاران (1390) در مطالعه خود موارد بروز لاکتوکوکوزیس (استرپتوکوکوزیس) با عامل لاکتوکوکوس گارویه در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استان چهارمحال و بختیاری را مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه تعداد 192 جدایه باکتریایی از بافت کلیه ماهیان بیمار مربوط به 32 مزرعه پرورشی در محیط آگار خون‌دار در 30 درجه سانتی‌گراد جداسازی شد که پس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی تعداد 68 جدایه آن خصوصیات لاکتوکوکوس گارویه را نشان دادند. هدف از این مطالعه ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی جفت میوه بلوط روی عامل عفونی لاکتوکوکوس گارویه جدا

2008a؛ Soltani و همکاران، 2005) در این بررسی‌ها، استرپتوکوکوس اینیایی (Soltani و همکاران، 2005) و لاکتوکوکوس گارویه (Soltani و همکاران، 2008b) به‌منزله عمده‌ترین گونه‌های بیماری‌زای مزارع کشور مطرح شده‌اند.

از وقتی عوارض جانبی مواد شیمیایی به‌خصوص سرطان‌زا بودن آن‌ها شناخته شد، علاقه برای استفاده از مواد نگه‌دارنده طبیعی بیشتر گردید (Hong و همکاران، 2012). امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگه‌دارنده‌های شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی مشتق شده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگه‌دارنده‌های غذایی شیمیایی مصون باشند (Hyldgaard و همکاران، 2012).

آبزی‌پروری با تولیدی بیش از 154 میلیون تن در سال 2011 به‌عنوان فعالیت اقتصادی مهم در بیشتر کشورها محسوب می‌شود (FAO، 2012). محدودیت‌های قانونی، وجود مشکلات در دستورالعمل‌های تجویز، سختی کار و گران بودن داروها، تجمع آن‌ها در محیط زیست و کاهش اثر داروها، محققان را بر آن داشت تا از ترکیبات گیاهی و محرک‌های ایمنی و غذایی استفاده کنند. استفاده از ترکیبات گیاهی به‌علت ارزان بودن، در دسترس بودن و آسانی رشد و کشت آن‌ها از نظر اقتصادی

به‌صرفه‌تر هستند. آن‌ها دوست‌دار محیط زیست بوده و در آبزی‌پروری قابل استفاده می‌باشند (Costa و همکاران، 2012).

اسانس‌های گیاهی، روغن‌های فراری هستند که اثرات میکروبی آن‌ها شناخته شده و از بخش‌های مختلف گیاه به‌دست می‌آیند (Abdollahzadeh و همکاران، 2014). اگر مواد نگه‌دارنده طبیعی به‌جای مواد شیمیایی در مواد غذایی استفاده شوند لازم است که ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن‌ها در آزمایشگاه و سپس در مدل-



شده از نمونه ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌های گیاهی میوه بلوط (جفت): میوه بلوط از کوه‌های جنوبی زاگرس جمع‌آوری و شناسایی آن در هرباریوم گیاه‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه انجام و عصاره‌گیری به روش Harikrishnan و همکاران (2012) با کمی تغییر انجام شد. از 100 گرم جفت بلوط پودر شده برای عصاره‌گیری با اتانول 70 درصد و آب مقطر استفاده شد. جداسازی حلال با استفاده از روتاری تبخیرکننده انجام و عصاره باقی‌مانده در 20- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند.

باکتری:

از گونه لاکتوکوکوس گارویه جدا شده از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی تهران استفاده شد. باکتری مورد مطالعه در محیط کشت مایع براث کشت تا اینکه جذب نوری آن بین 0/13-0/8 با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 625 نانومتر بود (Milton Roy Company, USA). این میزان کدورتی برابر با CFU/mL $1/5 \times 10^8$ دارد (Mc Manus و همکاران، 2002).

فعالیت ضدباکتریایی: 1-

روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion): از روش توصیه شده (NCCLS، 2000) استفاده شد. برای این کار ابتدا لاکتوکوکوس گارویه را به مدت 24 در ژلوز خون‌دار کشت داده و سپس در سرم فیزیولوژی استریل میکروبی معادل نیم مکفارلند تهیه و میزان 100 ماکرولیترا از سوسپانسیون تهیه شده در محیط کشت جامد به روش کشت سطحی پخش و صفحات دیسک بلانک آغشته به 20 ماکرولیترا محلول عصاره در آن قرار داده شد. پلیت-ها به مدت 24 ساعت در دمای 30 تا 37 درجه نگهداری شدند. فعالیت ضدباکتریایی با کنترل مثبت مقایسه و براساس قطر هاله عدم رشد مجاور دیسک تعیین گردید (Celiktas و

همکاران، 2007).

2- روش چاهک (Well method):

ابتدا میزان 60 میکرو لیتر از هریک از عصاره‌ها به گوده‌های 6 میلی-متری ایجاد شده در روی محیط ژلوز خون‌دار اضافه و محیط‌ها در دمای 30 تا 37 درجه به مدت 24 ساعت نگهداری و سپس میزان قطر هاله ایجاد شده (عدم رشد) با خطکش در حد میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

تعیین حداقل غلظت مهارکننده: برای این کار ابتدا به همه چاهک‌های پلیت 96 خانه میزان 95 میکرولیتر محیط کشت TSB (تریپتیک سویا براث) اضافه و به چاهک‌های اول مقدار 100 میکرولیتر از محلول‌های مواد ضدباکتریایی با غلظت مشخص اضافه شد و پس از مخلوط کردن 100 میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم اضافه کرده و بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار را ادامه داده و سپس از چاهک آخر مقدار 100 میکرولیتر از محیط کشت خارج کرده و سپس مقدار 5 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل CFU/mL 107 به محیط اضافه کرده تا مقدار باکتری در کل چاهک معادل CFU/mL 5×10^5 شود سپس پلیت‌ها درون انکوباتور 30-37 درجه به مدت 24 ساعت نگهداری و کم-ترین رقتی که در آن عدم کدورت یا عدم رشد انجام گرفت به‌عنوان MIC لحاظ گردید. عدم کدورت به‌صورت چشمی و عدم رشد با استفاده از سنجش میزان جذب نوری در بلافاصله پس از افزودن باکتری و پس از 24 ساعت تعیین گردید (Sagdic و همکاران، 2007).

آنالیز آماری: از آزمون T-test جهت مقایسه خواص ضدباکتریایی عصاره‌های مورد مطالعه استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفته و گروه‌ها در سطح ($p < 0/05$) معنی‌دار اعلام شدند. در صورت معنی‌دار بودن آنالیز داده‌ها با استفاده از روش‌های آنالیز آماری Anova یکطرفه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه 18 برای



2- روش چاهک: نتایج فعالیت ضدباکتریایی عصاره ها به روش چاهک در جدول 1 آمده است، براساس این جدول، عصاره آبی جفت میوه بلوط با قطری برابر با $7/12 \pm 0/83$ میلی‌متر داشت درحالی‌که عصاره اتانولی با قطری معادل $7/83 \pm 0/7$ میلی‌متر فعالیت ضدباکتریایی بهتری از خود نشان داد. میان فعالیت ضدباکتریایی دو نوع عصاره با روش دیسک دیفیوژن با کنترل مثبت (میانگین قطر هاله‌های عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج آزمون MIC در جدول 1 نشان می‌دهد که مقدار MIC برای عصاره اتانولی و آبی علیه باکتری لاکتوکوکوس گارویه به ترتیب برابر با $0/75$ و $1/5$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است.

بررسی نتایج آزمون‌ها و مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف استفاده شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه سه بار تکرار و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد.

نتایج

1- روش دیسک دیفیوژن: نتایج فعالیت ضدباکتریایی عصاره ها به روش دیسک دیفیوژن در جدول 1 آمده است، براساس این جدول عصاره آبی جفت میوه بلوط قطری برابر با $6/33 \pm 0/59$ میلی‌متر درحالی‌که عصاره اتانولی با قطری معادل $7/72 \pm 0/64$ میلی‌متر فعالیت ضد باکتریایی بهتری از خود نشان داد. میان فعالیت ضدباکتریایی دو نوع عصاره با روش دیسک دیفیوژن با کنترل مثبت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$).

جدول 1: قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌لیتر) و مقادیر MIC (بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره اتانولی و آبی جفت میوه بلوط علیه (*L. garvieae*)

MIC	روش دیسک				گونه گیاه		
	روش چاهک		روش چاهک		25	50	
0/75	02/±9/75 _{A,B}	0/5±8/75 _{A,B}	0/8±5 ^{A,B}	2	1/84±7/68 _a	1/70±5/75 ^a	عصاره اتانولی
1/5	3/20±8/75 ^B	2/30±7/12 ^B	3/1±5/5 _B	1/5±7/75 ^a	1/82±7 ^a	0/95±4/25 ^a	عصاره آبی
-		1±16 ^D			0/76±14/5 ^c		کلرامفنیکل
-		0/25±12/15 ^{C,D}			0/50±9/5 ^{b و a}		انروفلوکسازین
-		0/86±14/5 ^{C,D}			0/5±13/5 ^{c و b}		اریترومایسین
-		0			0		تتراسایکلین
-		1±18/1 ^{B,C}			2/51±17/5 ^c		آمپی‌سیلین
-					-		دی‌متیل-
-					-		سولفوکساید
-					-		آب مقطر

(میانگین \pm انحراف معیار) گروه‌ها در سطح 0/05 معنی‌دار می‌باشند.

بحث

باکتریایی شدند (Sahoo و Mukherjee، 1997). در مطالعه حاضر عصاره اتانولی جفت بلوط فعالیت ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره آبی از خود نشان دادند. در

آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی که برای جلوگیری از بروز بیماری و گسترش پاتوژن‌ها در یک دوره زمانی استفاده می‌شدند باعث ایجاد مقاومت



اهمیت این درختان بیشتر به خاطر تاننی است که در اجزای مختلف آنها یافت می‌شود. تاننها می‌توانند برای باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای و حتی ویروس‌ها سمی باشند (Fan و Basri، 2005).

تاننها با رسوب پروتئین-های میکروبی مانع از رشد آنها می‌شوند. تاننها از دسترسی عوامل میکروبی به پروتئین‌های غذایی جلوگیری می‌نمایند به علاوه از طریق مکانیسم به دام انداختن آهن، باندا شدن هیدروژن و پراکنش اختصاصی با پروتئین‌های حیاتی مانند آنزیم‌ها ایفای نقش می‌کنند. تاننها حتی قادرند با مهار آنزیم ترانس کریپتاز معکوس در ویروس‌های انسانی مانع از تکثیر این آنزیم شوند (Nair و همکاران، 2007).

در این مطالعه آنتی-بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل و اریترومايسين بیشترین تاثیر را روی باکتری لاکتوکوکوس گارویه از خود نشان دادند. بین فعالیت ضدباکتریایی عصاره گیاه بلوط به-روش دیسک دیفیوژن با آنتی‌بیوتیک-های آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل و اریترومايسين اختلاف معنی‌داری وجود داشت به طوری که میزان قطر هاله عدم رشد برای عصاره‌های الکلی و آبی به ترتیب برابر و درحالی که این مقادیر برای آنتی-بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل و اریترومايسين به ترتیب برابر بودند.

تاکنون تحقیقات متعدد توانسته‌اند خواص آنتی‌بیوتیک بلوطها را به اثبات برسانند که در اینجا به برخی از آنها اشاره می‌شود، خسروی و بهزادی (1384) نشان دادند که عصاره متانولی میوه‌های گونه‌ای بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) دارای اثری مشابه و حتی در برخی غلظت‌ها قوی‌تر از آنتی بیوتیک نایلیدیسک اسید و کوتریموکسازول (co-trimoxazole) روی باکتری‌های *Proteus mirabilis* و *E. coli* می‌باشد. همچنین عصاره هیدروالکلی *Q. infectoria* با غلظت 75 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی باکتری *Staphylococcus aureus*

این مطالعه با افزایش غلظت عصاره‌ها از 25 به 100 میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال توانایی تاثیر ضدباکتریایی با افزایش دز و غلظت متابولیت‌ها افزایش می‌یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره جفت با افزایش غلظت از رشد لاکتوکوکوس گارویه جلوگیری کرده که با مطالعه صفری و همکاران (2009) که تاثیر ضدباکتریایی عصاره بلوط را روی 8 عامل باکتریایی شامل (*Salonella typhy, Proteus mirabilis, Shigella dysenteriae, E. coli, Klebsiella pneumonia, Brucella melitensis, Bordetella bronchiseptica, Pseudomonas aeruginosa*) انجام و نشان دادند که افزایش قطر هاله عدم رشد متناسب با افزایش متابولیت‌های عصاره بلوط است کاملاً مطابقت دارد.

به علاوه در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین فعالیت ضدباکتریایی غلظت‌های عصاره‌های اتانولی و متانولی جفت بلوط در هر دو روش چاهک و دیسک با آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مشاهده شد ($P < 0/05$). درحالی که میان فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های مورد استفاده فاقد اختلاف معنی‌دار بود. Harborne (1998) در مطالعه خود نشان داد اختلاف معنی‌داری بین خواص ضدباکتریایی عصاره‌های الکلی و آبی بلوط با روش چاهک وجود نداشت.

خواص ضدقارچی، ضدباکتریایی، ضدویروسی بعضی گونه‌های بلوط از جمله بلوط ایرانی و گال بلوط به وسیله برخی محققان گزارش شده (Behzadi و Khosravi، 2006). به طوری که ترکیباتی مانند فلانوئیدها، تانین‌ها و پلی-سیانیدها از عصاره این گیاه جداسازی شده است (Sakar و همکاران، 2005). گزارش شده که الکلونیدهای مسطح اروماتیک با کلیت داخلی DNA سلول فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان می‌دهند (Cowan، 1999). احتمالاً فعالیت ضد میکروبی بلوط به خاطر تانن‌های موجود در عصاره آنها می‌باشد، زیرا تاننها از ترکیبات مهم در درختان بلوط هستند و



فعالیت ضد میکروبی به خاطر تانن‌های موجود در عصاره گیاهی باشد. برخی اظهار عقیده نموده‌اند که این ماده را باید یکی از شاخص‌ترین موادی دانست که در عالم گیاهان به وجود می‌آید (Motevaselian و Farahi, 1979). خصوصیات ضد میکروبی تانن‌ها در سال 1991 مورد بررسی قرار گرفت، طبق این مطالعات تانن‌ها می‌توانند برای قارچ‌های رشته‌ای، مخمرها و باکتری‌ها سمی باشند (Cowan, 1999). بررسی اثرات ضد باکتریایی تانن‌های بافت و گیاه کامل نیز توسط کیارستمی (1377) صورت گرفت (Kiarostami, 1998).

به‌طور کلی بالاترین فعالیت ضدباکتریایی برای عصاره اتانولی و بعد از آن عصاره آبی به‌دست آمد که در مشابه با کارهای دیگر (Martin, 1995؛ Paz و همکاران، 1995؛ Vlientinck و همکاران، 1995) که گزارش دادند عصاره آبی گیاهان کم‌تر فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌ها داشتند. عصاره‌گیری با حلال‌های با قطبیت بیشتر باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی می‌شود.

با توجه به عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین نتایج فعالیت ضدباکتریایی آن‌تی‌بیوتیک انروفلوکسازین با عصاره‌های مورد مطالعه می‌توان این عصاره‌ها را از نظر درمانی با این آن‌تی‌بیوتیک قابل مقایسه دانست و با توجه به این‌که مصرف عصاره‌های گیاهی دوست‌دار طبیعت می‌باشد، لذا نتایج این مطالعه می‌تواند برای صنعت آبی-پروری مفید واقع شود.

به‌طور کلی اهمیت درمانی درختان بلوط بیشتر مربوط به تاننی است که در اعضای مختلف آن‌ها از جمله برگ‌ها فراهم می‌شود. تانن یک نام کلی برای گروهی از مواد پلیمری فنولی با وزن مولکولی بالا (500-3000 دالتون) است که جزء یکی از کلاس‌های مهم متابولیت‌های ثانویه در گیاهان محسوب می‌شوند (KazemiNajafi, 2000؛ Cowan, 1999؛ Mallika و Dhar, 1980). با توجه به توسعه صنعت آبی‌پروری در کشور و استفاده بی‌رویه از

دارای اثری مشابه با آن‌تی‌بیوتیک جنتامایسین بوده و حتی قوی‌تر از آن‌تی‌بیوتیک توبرامایسین عمل می‌نماید (ابراهیمی و همکاران، 1390؛ ابراهیمی و همکاران، 1388).

عصاره‌های آبی و الکلی مورد مطالعه در غلظت 25 میلی‌گرم در میلی-لیتر کم‌ترین فعالیت ضدباکتریایی را از خود نشان دادند و با کاهش غلظت عملاً فعالیت ضدباکتریایی قابل چشم‌پوشی بود. این درحالی است که عصاره اتانولی حداکثر قطر هاله عدم رشدی برابر با 11 میلی‌متر در غلظت 100 میلی‌گرم در میلی‌لیتر از خود نشان دادند. مقایسه این دو روش کمی چاهک پلیت و دیسک دیفیوژن نشان داد که روش چاهک پلیت در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن، اثر مهارکنندگی بیشتری علیه این باکتری دارد.

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که مقادیر MIC بین 0/75-1/5 میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای هر دو عصاره به‌دست آمد. در این مطالعه به‌هرحال عصاره اتانولی با میزان MIC کم‌تری از خود نشان داد که بیانگر اثر مهارکنندگی بهتر این عصاره در مقایسه با عصاره آبی جفت می‌باشد.

نتایج فعالیت پاکسازی باکتریایی علیه پاتوژن باکتریایی در جدول 1 نشان داده شده است. این پاتوژن باکتریایی ماهی یکی از رخ داده‌های معمولی بخشی از صنعت آبی‌پروری هست که باعث بیماری‌های عفونی و مرگ و میرهایی در ماهی‌ها می‌شود (Buller و همکاران، 2004).

نتایج آزمون در روش دیسک دیفیوژن نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین عصاره اتانولی و آبی جفت میوه بلوط علیه لاکتوکوکوس گارویه وجود نداشت یکی از دلایل این امر به این خاطر است که هر دو نوع عصاره بیشتر شامل ترکیبات قطبی می‌شود. طبق نظر Basri و Fan (2005) عصاره‌های گیاهی معمولاً بیشتر در برابر باکتری‌های گرم مثبت فعال هستند تا باکتری‌های گرم منفی و به‌نظر می‌رسد که این



م.ع.؛ ممتاز، ح. و مومنی، م.، 1390. تعیین فراوانی لاکتوکوکوس گارویه عامل بیماری لاکتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان استان چهار محال و بختیاری و تعیین توالی ژن 16S rRNA جدایه های حاصله. مجله دامپزشکی ایران. دوره هشتم، شماره 1، صفحات 61 تا 67.

4. محمودی، آ.، 1391. مطالعه تاثیر اسانس آویشن شیرازی و نیسین بر رفتار رشد لاکتوکوکوس گارویه روی فیله ماهی قزل آلی رنگین کمان. پایان نامه دکتری شیلات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران. 146 صفحه.

5. مقلبی، م.؛ سلطانی، م.؛ میرزرگر، س. و قدرتنما، م.، 1392. تاثیر اسانس های اوکالیپتوس کامالدولنسسیس (*Eucalyptus camaldulensis*)، پونه معطر (*Mentha pulegium*)، و آلوئه ورا (*Aloe vera*) در رفتار رشد باکتری های استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*) و لاکتوکوکوس گارویه (*Lactococcus garviae*)، عامل استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل آلی رنگین کمان کشور و مقایسه آن با کلر آمین T. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره 66، شماره 1، صفحات 105 تا 118.

6. **Abdollahzadeh E.; Rezaei M. and Hosseini H., 2014.** Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Journal of Food Control*. Vol. 35, No. 1, pp: 177-183.
7. **Basri, D.F. and Fan, S.H., 2005.** The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian. J. Pharmacol.* Vol. 37, No. 1, pp: 26-29.
8. **Bohlouli, G.; Ghaedi, G.; Heydari, M.; Sadeghi, E. and Rahmani, M., 2015.** Effects of dietary Persian oak (*Quercus brantii* var. *persica*) fruit extract on survival, growth performance, hematological and immunological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings. *Aquaculture Nutrition*. Vol. 21, No. 1, pp: 98-104.
9. **Buller, N.B., 2004.** Bacteria from fish and other aquatic animals: A practical identification manual. CABI Publishing, UK. 248 p.
10. **Celiktas, O.; Kocabas Bedir, E.; Sukan, E.; Ozek, F. and Baser, K., 2007.** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Journal of Food Chemistry*. Vol. 100, pp: 553-559.
11. **Costa, G.; Danz, H.; Kataria, P. and Bromage, E., 2012.** A holistic view of the dynamisms of teleost IgM: A case study of *Streptococcus iniae* vaccinated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of developmental and comparative immunology*. Vol. 36, pp: 298-305.

مواد شیمیایی و نظر به اهمیت اثرات مضر این مواد بر محیط زیست و بهداشت مصرف کنندگان استفاده از جفت میوه بلوط می تواند به عنوان یک ماده گیاهی دوستدار طبیعت در صنعت آبزی پروری و به ویژه علیه بیماری لاکتوکوکوزیس مورد استفاده قرار گیرد به علاوه این ترکیب (عصاره) به لحاظ خواص آنتی-اکسیدانی، تحریک ایمنی و ضدباکتریایی نه تنها خاصیت ضد میکروبی بلکه خاصیت کاهش استرس و افزایش رشد نیز دارد (Bohlouli و همکاران، 2015؛ Ghaderi Ghahfarokhi و همکاران، 2011؛ Safary و همکاران، 2009؛ Khosravi و Behzadi، 2006؛ Kaur و همکاران، 2004).

تشکر و قدردانی

این پژوهش مستخرج از طرح شماره 930203 مصوب بنیاد نخبگان استان کهگیلویه و بویراحمد بوده است. در انجام این تحقیق از حمایت قطب علمی بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران خوردار بوده که بدین وسیله تشکر و قدردانی می نماید و همچنین در انجام این تحقیق از کمک و راهنمایی کارشناسان آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. ابراهیمی، ا.؛ خیامی، م. و نجاتی، و.، 1388. ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی میوه بلوط ایرانی در روش انتشار دیسک. فصلنامه گیاهان دارویی. دوره 33، شماره 1، صفحات 26 تا 34.
2. ابراهیمی، ا.؛ خیامی، م. و نجاتی، و.، 1390. مقایسه اثر ضد میکروبی اجزای مختلف بلوط ایرانی علیه باکتری اشریاکلی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد. دوره 17، شماره 4، صفحات 11 تا 17.
3. سلطانی، م.؛ رئیسی، م.؛ گودرزی،



28. **Kiarostami, K.H., 1998.** Evaluation of the antibacterial effects of *Quercus persica* and *Quercus castaneifolia* in tissue culture and perfect plant. J. Sci. Vol. 11, No. 1, pp: 1-8.
29. **Lavanya, R. and Veerappan, N., 2011.** Antibacterial Potential of Six Seaweeds Collected from Gulf of Mannar of the Southeast Coast of India. Adv. Biol. Res. Vol. 5, pp: 38-44.
30. **Mahmoodi, A.; Roomiani, L.; Soltani, M.; Akhondzadeh Basti, A.; Kamali, A. and Taheri, S., 2012.** Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils and Extracts from *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus*. Global Veterinaria. Vol. 9, No. 1, pp: 73-79.
31. **Mallika, M. and Dhar, S.C., 1980.** Studies on the oxidation of tannins by *Aspergillus flavus*. J Bio Sci. Vol. 2, No. 1, pp: 43-48.
32. **Martin, G.J., 1995.** Ethnobotany: A Methods Manual. Chapman and Hall, London. 198 p.
33. **McManus, P.S.; Stockwell, V.O.; Sundin, G.W. and Jones, A.L., 2002.** Antibiotic use in plant agriculture. Annu. Rev. Phytopathol. Vol. 40, pp: 443-465.
34. **Motevaselian, M. and Farahi, F., 1979.** Measurement of Extractive Materiales of *Quercus infectoria* for Foodstuff and Medicinal Value of It. Doctoral thesis. Medical faculty. Tehran University. 136 p. (In Persian).
35. **Nair, R.; Kalariya, T. and Chanada, S., 2007.** Antibacterial activity of some plant extracts used in folk medicine. J Herb Pharmacother. Vol. 7, pp: 191-201.
36. **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2000.** Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. Approved Standard, M2-A7. 199 p.
37. **Norhana, M.N.W.; Poole, S.E.; Deeth, H.C.; Gary, A. and Dykes, A., 2012.** Effects of nisin, EDTA and salts of organic acids on *Listeria monocytogenes*, Salmonella and native microflora on fresh vacuum packaged shrimps stored at 4 °C. Journal of Food Microbiology. Vol. 31, pp: 43-50.
38. **Okeke, I.N.; Laxmanarayan, R.; Bhutta, Z.A.; Duse, A.G.; Jenkins, P.; O'Brien, T.F.; Pablos-Mendez, A. and Klugman, K.P., 2005.** Antimicrobial resistance in developing countries, Part 1: recent trends and current status. LanInfeddis. Vol. 5, pp: 481-493.
39. **Padulosi, S. and Hadj-Hassan, A., 1998.** Towards a comprehensive documentation of distribution and use of Pistacia: genetic diversity in Central and West Asia, North Africa and Mediterranean Europe., Report of the IPGRI Workshop. 211 p.
40. **Paz, E.A.; Cerdeiras, M.P.; Fernandez, J.; Ferreira, F.; Moyna, P.; Soubes, M.; Vázquez, A.; Vero, S. and Zunino, L., 1995.** Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity. J. Ethnopharm. Vol. 45, pp: 67-70.
41. **Safary, A.; Motamedi, H.; Maleki, S. and Seyyednejad, S.M., 2009.** A preliminary study on the antibacterial activity of *Quercus brantii* against bacterial pathogens, particularly enteric pathogens. Int. J. Bot. Vol. 5, No. 2, pp: 176-180.
42. **Sagdic, O.; Aksoy, A.; Ozkan, G.; Ekici, L. and Albayrak, S., 2007.** Biological activities of the extracts of two endemic Sideritis species in Turkey. Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol. 9, No. 1, pp: 80-84.
43. **Sahoo, P.K. and Mukherjee, S.C., 1997.** In-vitro susceptibility of three bacterial pathogens of catfish to 23 antimicrobial agents. Indian J. Fisheries. Vol. 44, pp: 393-397.
12. **Cowan, M., 1999.** Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. Vol. 12, No. 4, pp: 564-582.
13. **Eldar, A.; Horovitz, A. and Bercovier, H., 1997.** Development and efficacy of a vaccine against Streptococcus iniae infection in farmed rainbow trout. Journal of Veterinary Immunology and Immunopathology. Vol. 56, No. 1-2, pp: 175-183.
14. **FAO, 2014.** The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA). FAO, Rome. 342 p.
15. **FAO, 2012.** The state of world fisheries and aquaculture. www. FAO.org. 281 p.
16. **Fereidouni, M.S.; Akhlaghi, M. and Khadem Alhosseini, A., 2013.** Antibacterial effects of medicinal plant extracts against *Lactococcus garvieae*, the etiological agent of rainbow trout lactococcosis. International Journal of Aquatic Biology. Vol. 1, No. 3, pp: 119-124.
17. **Gonzalez, A.; Basilio, A.; Cabello, A.; Gorrochategui, J.; Suay, I.; Visente, F.; Portillo, E.; Jimenez, M.; Garseia Reina, G. and Pelaez, F., 2001.** Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gram Canaria (Canary Islands, Spain). Int Mic. Vol. 4, pp: 35-40.
18. **Ghadery-Ghahfarokhi, M.; Sadeghi-Mahonak, A.; Alami, M.; Gorbani, M. and Azizi, M.H., 2011.** The effect of acid, alkali and salt on Removal of phenolics compounds from the pulp of two varieties of oak. Iranian Food Science and Technology Research Journal. Vol. 7, No. 1, pp: 50-59.
19. **Harborne, J.B., 1998.** Phytochemical methods. 3th Ed. New York: Chapman and Hall. pp: 5-7.
20. **Harikrishnan, R.; Kim, D.H.; Hong, S.H.; Mariappan, P.; Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2012.** Non-specific immune response and disease resistance induced by *Siegesbeckia glabrescens* against *Vibrio parahaemolyticus* in *Epinephelus bruneus*. Fish Shellfish Immunol. Vol. 33, No. 2, pp: 359-364.
21. **Hong, H.; Luo, Y.; Zhou, Z. and Shen, H., 2012.** Effects of low concentration of salt and sucrose on the quality of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets stored at 4 °C. Journal of Food Chemistry. Vol. 133, pp: 102-107.
22. **Hyldgaard, M.; Mygind, T. and Meyer, R.L., 2012.** Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies and interactions with food matrix components. Journal of frontiers in microbiology. Vol. 3, No. 2, pp: 24-37.
23. **Immanuel, G.; Vicnybai, V.C.; Sivaram, V.; Palavesam, A. and Marian, M.P., 2004.** Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweed on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaes indicus* juveniles. Aquaculture. Vol. 236, pp: 53-65.
24. **Kandhasamy, M. and Arunachalam, K.D., 2008.** Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. Afr. J Biotechnol. Vol. 7, No. 12, pp: 1958-1961.
25. **Kaur, G.; Hamid, H.; Ali, A.; Alam, M.S. and Athar, A., 2004.** Antiinflammatory evaluation of alcoholic extract of galls of *Quercus infectoria*. J Ethnopharmacol. Vol. 90, pp: 285-292.
26. **Kazemi Najafi, S. and Doosthoseini, K., 2000.** The use of gall flour as the filler of phenol-formaldehyde resin in plywood manufacturing. Iranian J Nat Res. Vol. 53, No. 2, pp: 155-164. (In Persian).
27. **Khosravi, A. and Behzadi, A., 2006.** Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of *Quercus brantii* on some gram-negative bacteria. Pak. J. Med. Sci. Vol. 22, pp: 429-432.



44. Sakar, M.K.; Ohreto, D.; Ozalp, M.; Ekizo, M.; Piacete, S. and Pizza, C., 2005. Polyphenolic Compounds and Antimicrobial Activity of *Quercus aucheri* Leaves. Turk J Chem. Vol. 29, pp: 555-559.
45. Sieradzki, K.; Robert, R.B.; Haber, S.W. and Tomasz, A., 1999. Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming. Ann. Rev. Fish Dis. Vol. 4, pp: 273-313.
46. Smith, P.; Honey, M.P. and Samuelsen, O.B., 1994. Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming. Ann. Rev. Fish. Dis. Vol. 4, pp: 273-313.
47. Soltani, M.; Jamshidi, S.H. and Sharifpour, I., 2005. Streptococcus iniae in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran, Biophysical characteristics and pathogenesis. Bulletin of the European Association of Fish Pathogenesis. Vol. 25, No. 3, pp: 95-106.
48. Soltani, M.; Fadaifard, F.; Sharifpour, I. and Zargar, A., 2008a. The experimental pathology of Streptococcus sp. in *Onchorhynchus mykiss*. Iranian Journal of Fisheries Science. Vol. 17, No. 4, pp: 81-88.
49. Soltani, M.; Nikbakht, G.H.; Mousavi, H.A.E. and Ahmadzadeh, N., 2008b. Epizootic outbreaks of Lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran. Bulletin of the European Association of Fish Pathogenesis. Vol. 28, pp: 207-212.
50. Soltani, M.; Alishahi, M.; Khazrainia, P. and Satari, A., 2009. Investigation of some immunological parameters of *Onchorhynchus mykiss* on some antigens of Streptococcus iniae. Iranian Journal of Veterinary Science. Vol. 62, No. 1, pp: 1-10.
51. Vlientinck, A.J.; Van Hoof, L.; Totté, J.; Lasure, A.; Vanden Berghe, D.; Rwangabo, P.C. and Mvukiyumwami, J., 1995. Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. J. Ethnopharm. Vol. 46, pp: 31-47.

